

**TRANSMISI TRANSOVARIAL VIRUS DENGUE PADA NYAMUK  
*Aedes aegypti* DI KOTA MAKASSAR, SULAWESI SELATAN,  
INDONESIA**

**(Studi observasional di 30 kelurahan di Kota Makassar  
periode November 2017 - Januari 2018)**

**TESIS**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Magister**



**Oleh:**

**ISNADIYAH**

**166070100111005**

**PROGRAM MAGISTER ILMU BIOMEDIK  
MINAT IMUNOLOGI, PARASITOLOGI DAN MIKROBIOLOGI**

**FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**2018**





**TRANSMISI TRANSOVARIAL VIRUS DENGUE PADA NYAMUK *Aedes aegypti* DI KOTA MAKASSAR, SULAWESI SELATAN, INDONESIA  
(Studi Observasional di 30 Kelurahan di Kota Makassar Periode  
November 2017 – Januari 2018)**

Oleh:

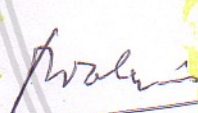
Isnadiyah.S.Si

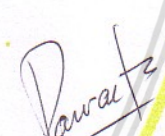
Dipertahankan di depan penguji  
Pada Tanggal 12 September 2018  
dan dinyatakan memenuhi syarat  
Komisi Pembimbing,

  
Prof. Dr. dr. Loeki Enggar Fitri, M.Kes., SpPark  
Ketua

  
Dr. Lilik Zuhriyah, SKM., M.Kes  
Anggota

Penguji,

  
Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTMH., M.Sc. SpPark  
Penguji 1

  
Dr. dr. Sri Poeranto, M.Kes, SpPark  
Penguji 2

Malang,  
Universitas Brawijaya  
Dekan,



Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes  
NIP. 195804141987012001



**IDENTITAS TIM PENGUJI****JUDUL TESIS**

Transmisi Transovarial Virus Dengue Pada Nyamuk *Aedes aegypti* di Kota Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia (Studi observasional di 30 kelurahan di Kota Makassar periode November 2017-Januari 2018)

Nama Mahasiswa : Isnadiyah  
NIM : 166070100111003  
Program Studi : Magister Ilmu Biomedik  
Minat : Immunologi, Parasitologi dan Mikrobiologi

**KOMISI PEMBIMBING**

Ketua : Prof. Dr. dr. Loeki Enggar Fitri, M.Kes.,Sp.ParK  
Anggota : Dr. Lilik Zuhriyah, SKM.,M.Kes

**TIM DOSEN PENGUJI**

Dosen Penguji 1 : Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, M.Sc.,DTM&H.,Sp.ParK  
Dosen Penguji 2 : Dr.dr. Sri Poeranto, Sp.ParK.,M.Kes

Tanggal Ujian Tesis : 12 September 2018

SK Penguji : 207 tahun 2017



# PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam Naskah TESIS ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi, dan tidak dapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.

Apabila ternyata di dalam naskah TESIS ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur PLAGIASI, saya bersedia TESIS ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh (MAGISTER) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku. (UU NO.20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan pasal 70)

Malang, 12 September 2018

Mahasiswa,



Nama : Isnadiyah  
NIM : 166070100111005  
PS : Ilmu Biomedik  
Prog. : Pascasarjana  
Fak : Kedokteran UB





***Persembahan buat orang-orang tersayang***

***Jazaakumullahu khoiran katsiran***

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah Robbil Aalamiin, dengan mengucapkan puji syukur ke hadirat Allah SWT atas semua limpahan berkah, rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis berjudul **“Transmisi Transovarial Virus Dengue Pada Nyamuk *Aedes aegypti* di Kota Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia (Studi observasional di 30 kelurahan di Kota Makassar periode November 2017-Januari 2018)”** sebagai salah satu persyaratan dalam menyelesaikan Program Magister Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Proses penyusunan tesis ini merupakan sebuah pengalaman yang sangat berharga dan dapat dijadikan bekal bagi penulis dalam mengembangkan intelektualitas yang tiada pernah henti. Penulis menyadari bahwa proses pembuatan tesis ini tidaklah mudah. Banyak pihak yang telah membantu dan mendukung penulis baik secara moril maupun materil, sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis ini dengan baik. Dalam kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Pemerintah Republik Indonesia melalui Kementerian Kesehatan dan Badan Pengembangan Sumber Daya Manusia (BPSDM) yang telah memberikan bantuan dana beasiswa dan riset pada program Magister Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
2. Rektor Universitas Brawijaya Malang, Prof. Dr. Ir. Mohammad Bisri.,M.S atas ijin dan kesempatan yang diberikan untuk mengikuti pendidikan Magister Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

3. Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, Dr. dr. Sri Andarini, M.Kes atas kesempatan, dukungan dan fasilitas yang diberikan selama masa pendidikan Magister Ilmu Biomedik di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
4. Ketua Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang, dr. Hidayat Sujuti, Ph.d., SpM dan mantan KPS Magister Ilmu Biomedik Prof. Dr. dr. Sumarno, DMM, SpMK (K) atas kesempatan, dukungan dan fasilitas yang diberikan selama masa pendidikan dan penyelesaian pendidikan.
5. Prof. Dr. dr. Loeki Enggar Fitri, M.Kes., Sp.ParK selaku ketua pembimbing yang telah bersedia dengan penuh keikhlasan dan meluangkan waktu untuk membimbing dan senantiasa memberikan banyak ilmu, pengarahan, bantuan, dukungan moril serta motivasi dari awal penyusunan proposal, selama penelitian hingga penyelesaian tesis.
6. Dr. Lilik Zuhriyah, SKM., M.Kes selaku anggota pembimbing yang telah bersedia membimbing dan meluangkan waktu untuk berdiskusi, memberikan ilmu, pengarahan, motivasi serta bantuan dari penyusunan proposal, penelitian hingga penyelesaian tesis.
7. Prof. Dr. dr. Teguh Wahyu Sardjono, M.Sc., DTM&H., Sp.ParK selaku ketua tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan ilmunya sebagai masukan, arahan serta nasihat mulai dari penyusunan proposal hingga penyelesaian tesis.
8. Dr. dr. Sri Poeranto, Sp.ParK., M.Kes selaku anggota tim penguji yang telah meluangkan waktu untuk membantu dan memberikan ilmunya sebagai

masukan, arahan, serta nasihat mulai dari penyusunan proposal hingga penyelesaian tesis.

9. Seluruh dosen, staf akademik, keuangan dan administrasi Program Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu atas ilmu dan bantuan yang telah diberikan selama menyelesaikan pendidikan ini.
10. Kepala Balai Teknik Kesehatan Lingkungan dan Pengendalian Penyakit Makassar, yang telah memberikan izin kepada penulis untuk melakukan penelitian di Laboratorium Entomologi dan Virologi BTKL Makassar.
11. Kepala Sie. Pengembangan Teknik Laboratorium (PTL) BTKL Makassar beserta staf, atas bantuan dan dukungannya selama penelitian.
12. Ibu dr. Zahrotunisa, M.Kes dan Bapak Didik Purwanto, Amd.K dari BBTKL Surabaya yang dengan segala kebaikan dan keikhlasan telah meluangkan waktu untuk memberikan ilmu, bantuan dan dukungan yang telah meringankan penulis selama masa penelitian.
13. Kanda Andi Arahmadani Arasy, SKM dari BTKL PP Makassar yang telah ikhlas meluangkan waktu, memberikan ilmu dan bantuan dari awal proses penelitian hingga penelitian berakhir.
14. Adik-adik mahasiswa Fak. Kesehatan Masyarakat Universitas Muslim Indonesia Angk. 2015 yang telah memberikan bantuan selama pengambilan sampel di lapangan.
15. Adik-adik mahasiswa Jurusan Biologi, Fak. MIPA Universitas Cokroaminoto Palopo Angk. 2015 atas bantuan yang diberikan selama pengerjaan sampel di laboratorium.



16. Sanitarian dari 14 puskesmas di Kota Makassar atas bantuan dan arahannya selama pengambilan sampel di lapangan
17. Kedua orang tua, Achmad Juhdi dan St. Mardiyah tercinta atas doa, kasih sayang dan cinta yang tak terhingga, memberikan kesempatan dan dukungan penuh baik secara moril maupun materil untuk melanjutkan pendidikan hingga ke jenjang magister.
18. Ketiga adik, Muh. Irfan Juhdi, Achmad Zulkifli Juhdi dan Muh Reza Fahmi Juhdi, atas doa, kasih sayang, bantuan serta dukungan moril dan materil kepada penulis selama ini.
19. Teman-teman Program Studi Biomedik angkatan 2016 yang telah banyak membantu dan memberikan dukungan selama masa studi dan proses penyelesaian studi.
20. Teman-teman dari Makassar yang telah banyak membantu dan memberikan dukungan baik secara moril maupun materiil selama masa studi dan proses penyelesaian studi.
21. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah banyak membantu dan memberikan dukungan secara moril dan materiil.

Semoga Allah SWT membalas semua kebaikan yang telah diberikan kepada penulis dengan pahala yang berlipat ganda. Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan, oleh sebab itu penulis mengharapkan saran dan kritik agar tesis ini dapat menjadi lebih baik dan bermanfaat bagi semua pihak.

Malang, September 2018

Penulis

## Ringkasan

Isnadiyah. NIM 166070100111005. Program Pascasarjana Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya Malang, 12 September 2018. Transmisi Transovarial Virus Dengue Pada Nyamuk *Aedes aegypti* di Kota Makassar, Sulawesi Selatan, Indonesia (Studi observasional di 30 kelurahan di Kota Makassar periode November 2017-Januari 2018). .Komisi Pembimbing : Ketua : Prof. Dr. dr. Loeki Enggar Fitri, M.Kes., Sp.ParK. Anggota : Dr. Lilik Zuhriyah,SKM.,M.Kes

Virus dengue (DENV) merupakan penyebab penyakit infeksi dengue, disebarkan oleh nyamuk *Ae.aegypti* sebagai vektor utama yang menyebabkan 3,9 miliar penduduk di 128 negara beresiko terinfeksi DENV. Angka kejadian atau *incidence rate* (IR) kasus infeksi dengue khususnya Demam Berdarah Dengue (DBD) mengalami peningkatan beberapa tahun terakhir di beberapa kota di Indonesia. DBD merupakan salah satu variasi gejala klinis dari infeksi DENV masih menjadi masalah kesehatan di Indonesia. Dinas Kesehatan Kota Makassar menyebutkan angka kejadian DBD di Makassar dari tahun 2014 -2016 mengalami kenaikan dari 139 kasus menjadi 250 kasus *severe dengue* (DBD).

Faktor yang mempengaruhi peningkatan infeksi DENV salah satunya adalah transmisi DENV ke manusia sehat melalui nyamuk *Ae.aegypti* betina. Mekanisme transmisi DENV di tubuh nyamuk secara transovarial dari nyamuk betina ke telur, diperkirakan menjadi penyebab meningkatnya *incidence rate* kasus DBD. Faktor ini pula yang menyebabkan DENV mampu mempertahankan eksistensinya di alam. Faktor lainnya yaitu sirkulasi dari keempat serotipe DENV pada nyamuk *Ae. aegypti* sepanjang tahun juga dapat mempengaruhi angka *incidence rate*. Kedua faktor ini menjadi dasar dilakukan penelitian mengenai transmisi transovarial DENV pada nyamuk *Aedes aegypti* di kota Makassar. Penelitian ini dilakukan pada periode November 2017 hingga Januari 2018 dengan tujuan untuk mengetahui seberapa besar transmisi transovarial virus Dengue dengan mengukur nilai minimum infection rate (MIR) dan distribusi keempat serotipe DENV pada nyamuk *Ae.aegypti* di kota Makassar,Sulawesi Selatan, dikaitkan dengan angka kejadian (*inciden rate*) DBD di daerah tersebut

Penelitian observasional ekologi ini dilakukan dengan pendekatan *crosssectional*. Unit sampel penelitian adalah 90 rumah di 30 kelurahan di Kota Makassar yang dipasang ovitrap. yang terbuat dari ember plastik berwarna hitam berukuran tinggi  $\pm 12$  cm yang diberi kertas saring (ovistrip) dan diberi atraktan (umpan) berupa air rendaman jerami. Ovitrap diletakkan di rumah penduduk yang pernah menderita DBD dan rumah di sekitarnya selama 9-12 hari. Pengecekan keberadaan telur nyamuk dilakukan setiap 3 hari untuk menghitung nilai indeks ovitrap di lokasi penelitian. Telur nyamuk yang diperoleh kemudian ditetaskan di laboratorium hingga menjadi nyamuk dewasa.Setelah nyamuk berusia 7 hari dilakukan identifikasi DENV pada 75 pool sampel nyamuk jantan dan 78 pool sampel nyamuk betina dengan menggunakan metode *reverse transcriptase polymerase chain reaction* (RT-PCR) menggunakan SuperScript<sup>TM</sup> III Reverse Transcriptase kit Invitrogen dan primer consensus D1 dan D2.

Hasil penelitian menunjukkan nilai indeks ovitrap (IO) berada di kisaran 0 - 66,7% Nilai rata-rata indeks ovitrap luar rumah (44,44%) lebih besar dibandingkan di dalam rumah (37,22%). Namun hasil analisis statistik menunjukkan perbedaan nilai rata-rata di luar dan di dalam rumah tidak berbeda nyata. ( $p=0.076$ ; uji T). Hasil identifikasi DENV dengan menggunakan RT-PCR memperlihatkan hasil negatif, ditunjukkan dengan tidak terbentuknya pita pada sampel nyamuk *Ae. aegypti* jantan dan betina setelah proses elektroforesis

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nyamuk *Ae. aegypti* di Kota Makassar cenderung untuk bertelur di luar rumah.Hal ini bisa disebabkan karena kebiasaan penduduk meletakkan tempat penampungan air hujan di luar rumah sehingga menjadi *breeding place* nyamuk *Ae. aegypti*. Penelitian ini juga menunjukkan bahwa pada periode November 2017 hingga Januari 2018 tidak ditemukan transmisi transovarial DENV pada nyamuk *Ae.aegypti* jantan dan betina di Kota Makassar.



## Summary

Isnadiyah. NIM 166070100111005. Magister Program of the Medicine Faculty, Universitas Brawijaya Malang, September 12<sup>th</sup> 2018 Transovarial Transmission of Dengue Virus in *Aedes aegypti* Mosquitoes in Makassar City, South Sulawesi, Indonesia (Observasional study in 30 villages in Makassar City on November 2017- January 2018 period). Advisory Commission: Chairperson: Prof. Dr. dr. Loeki Enggar Fitri, M.Kes., Sp. ParK Member: Dr. Lilik Zuhriyah, SKM., M.Kes

Dengue virus (DENV) is the etiologic agent of dengue infection, distributed by *Ae. aegypti* mosquitoes as the primary vector that caused 3.9 billion people in 128 countries at risk of being infected with Dengue virus. The prevalence of dengue infection (incidence rate, IR), especially Dengue Hemorrhagic Fever (DHF), has increased in recent years in several cities in Indonesia. DHF is one of the clinical symptoms variations of dengue infection and is one of the health problem in Indonesia. Dengue infection cases was risen in Makassar, one of the major cities in Indonesia. The Makassar City Health Office stated that DHF cases was increased from 139 cases to 250 cases in 2014 to 2016.

The increasing of Dengue infection is influenced by several factors including the transmission of dengue virus to healthy humans through the female *Ae. aegypti* mosquito. The mechanism of transmission of dengue virus in the body of mosquitoes is thought to be cause of the increased incidence rate of DHF. This factor also causes DENV to be able to remain its existence in nature. Another factor that affects the IR number is the circulation of the four dengue virus serotypes in *Ae. aegypti* mosquitoes throughout the year. Based on the both of these factors, we investigated the transovarial transmission of dengue virus in *Ae. aegypti* mosquitoes in the city of Makassar. to find out how much the transovarial transmission of the Dengue virus by measuring the value of the minimum infection rate (MIR) and the distribution of the four DENV serotypes in *Ae. aegypti* mosquitoes in the city of Makassar. This study was conducted on November 2017 - January 2018 to find out how much the transovarial transmission of the Dengue virus by measuring the value of the minimum infection rate (MIR) and the distribution of the four DENV serotypes in *Ae. aegypti* mosquitoes in the city of Makassar, South Sulawesi, was associated with the IR of DHF in the area

This observational ecological studies was carried out with a cross-sectional approach. The sample of the research were 90 houses installed ovitraps in 30 villages in the city of Makassar. An ovitrap is eggs mosquito traps made of black plastic bucket with a height of  $\pm 12$  cm which were given a filter paper (ovistrip) and an attractant (bait) in the form of straw soaking water. Ovitrap was placed in the homes of residents who had suffered from dengue fever and also the surrounding houses for 9-12 days. Checking the existence of eggs in ovitrap was done every 3 days to calculate the ovitrap index value at the study site. Mosquito eggs obtained were hatched in a laboratory to become adult mosquitoes. After 7 days, 75 pool samples of male mosquitoes and 78 pool samples of female mosquitoes was identified using the reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) method using SuperScript<sup>TM</sup> III Reverse Transcriptase kit and D1 and D2 consensus primers.

These results showed that the ovitrap index (IO) was in the range of 0 - 66.7%. The average value of the ovitrap index outside the house (44.44%) was greater than inside house (37.22%). However, the statistical analysis showed the difference value values outside and inside the house did not differ significantly ( $p = 0.076$ ; T test). The results of identification of dengue virus using RT-PCR showed negative results as indicated by the non-formation of a band on male and female *Ae. aegypti* mosquitoes after electrophoresis.

The results of this study indicated that the *Ae. aegypti* mosquito in Makassar City showed a tendency to lay eggs outside the house due to the habit of the people who put rain water shelters outside the house which could become breeding place for *Ae. aegypti* mosquitoes. This study also showed that there was no transovarial transmission of DENV found in male and female *Ae. aegypti* mosquitoes in Makassar City during November 2017 until Januari 2018.

## DAFTAR ISI

Sampul .....	i
Lembar Persetujuan .....	ii
Identitas Tim Penguji .....	iii
Pernyataaan Orisinalitas Tesis .....	iv
Halaman Persembahan .....	v
Kata Pengantar .....	vi
Ringkasan .....	ix
Summary .....	x
Daftar Isi .....	xi
Daftar Gambar .....	xviii
Daftar Tabel .....	xix
Daftar Lampiran .....	xx
Daftar Singkatan .....	xxi
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Sub Masalah .....	6
1.4 Tujuan Penelitian .....	6
1.5 Manfaat Penelitian .....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>8</b>
2.1 Virus Dengue .....	8
A. Struktur Virus Dengue .....	8
B. Fungsi Protein Struktural dan Protein Non Struktural Virus Dengue .....	10



C. Jenis Serotipe Virus Dengue .....	12
D. Penularan dan Penyebaran Virus Dengue .....	13
2.2 Identifikasi Virus Dengue .....	16
2.3 Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> sebagai vektor infeksi Dengue .....	19
A. Klasifikasi Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> .....	19
B. Morfologi .....	19
C. Siklus Hidup .....	22
D. Pengendalian Vektor Infeksi Dengue .....	24
2.4 Infeksi Dengue .....	26
A. Epidemiologi Infeksi Dengue .....	26
B. Patogenesis Infeksi Dengue .....	28
a. Teori Infeksi Sekunder .....	29
b. Teori <i>Antibody Dependent Enhancement</i> (ADE) .....	31
c. Teori Virulensi .....	32
d. Teori Apoptosis .....	33
C. Manifestasi Klinis Infeksi Dengue .....	33
a. Demam Tidak Jelas (sindrom viral) .....	34
b. Demam Dengue (DD) .....	34
c. Demam Berdarah Dengue (DBD).....	35
d. <i>Dengue Shock Syndrom</i> (DSS) .....	37
e. <i>Expanded Dengue Syndrome</i> .....	38
D. Pemeriksaan Laboratorium Penderita Infeksi Dengue .....	37
a. Demam Dengue (DD) .....	37
b. Demam Berdarah Dengue (DBD) .....	38
c. <i>Dengue Shock Syndrom</i> (DSS) .....	39

<b>BAB III KERANGKA KONSEP PENELITIAN</b> .....	40
3.1 Kerangka Konsep .....	40
3.2 Hipotesis .....	
<b>BAB IV METODOLOGI</b> .....	43
4.1 Rancangan Penelitian .....	43
4.2 Populasi Penelitian, Sampel Penelitian, Lokasi dan Teknik Sampling .....	43
4.2.1 Populasi Penelitian .....	43
4.2.2 Perkiraan Besaran sampel .....	43
4.2.3 Lokasi Pengambilan Sampel .....	44
4.2.4 Teknik Sampling .....	44
4.3 Waktu dan Tempat Penelitian .....	45
4.4 Variabel Penelitian .....	45
4.5 Defenisi Operasional .....	46
4.6 Prosedur Penelitian .....	44
4.6.1 Alat dan Bahan Penelitian .....	47
4.6.2 Pemasangan Ovitrap dan Koleksi Telur Nyamuk .....	47
4.6.3 Rearing/Penetasan dan Pemeliharaan Sampel Nyamuk .....	48
4.6.4 Identifikasi Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> .....	49
4.6.5 Preparasi dan RNA Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> .....	50
4.6.6 Ekstraksi RNA .....	50
4.6.7 Identifikasi Virus Dengue dengan RT-PCR .....	51
4.6.8 Elektroforesis .....	52
4.7 Analisis Data .....	53
4.8 Alur Penelitian .....	54



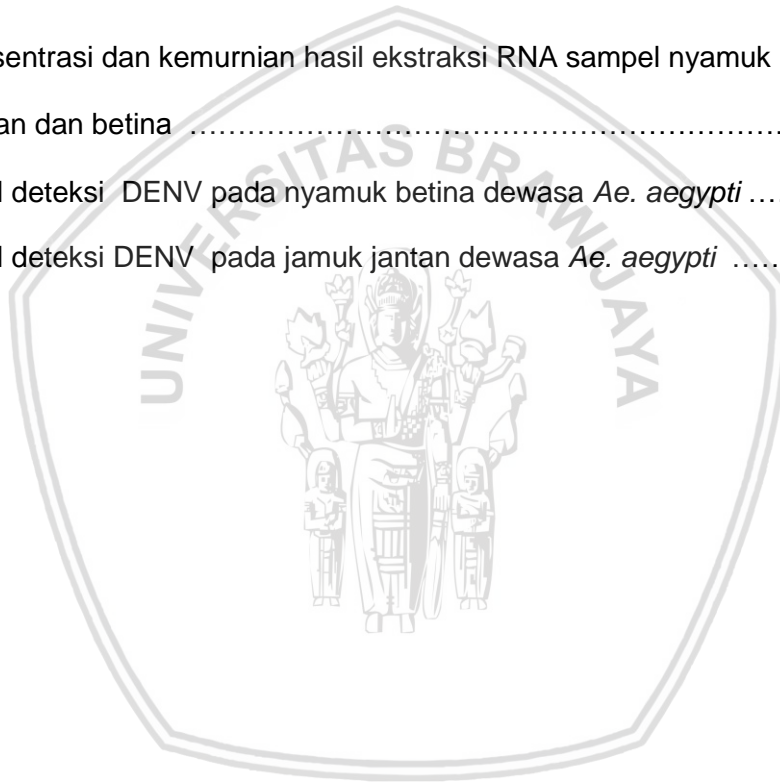
<b>BAB V HASIL PENELITIAN .....</b>	<b>55</b>
5.1 Gambaran Umum Lokasi Penelitian .....	55
5.2 Jumlah Kasus Demam Berdarah dan Insiden Rate DBD di Kota Makassar..	57
5.3 Lokasi Penelitian dan Pemasangan Ovitrap .....	59
5.4 Ekstraksi RNA sampel nyamuk <i>Aedes aegypti</i> .....	61
5.5 Deteksi virus Dengue pada nyamuk <i>Aedes aegypti</i> jantan dan betina .....	62
<b>BAB VI PEMBAHASAN .....</b>	<b>67</b>
6.1 Pengumpulan Sampel di Lokasi Penelitian .....	67
6.2 Angka Kejadian ( <i>incidence rate</i> ) di Kota Makassar .....	68
6.3 Deteksi Virus Dengue pada Nyamuk <i>Aedes aegypti</i> dewasa .....	70
<b>BAB VII PENUTUP .....</b>	<b>76</b>
7.1 Kesimpulan .....	76
7.2 Saran .....	76
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>78</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>89</b>
<b>Riwayat Hidup .....</b>	<b>98</b>

## DAFTAR GAMBAR

2.1	Struktur DENV	8
2.2	Transmisi Horizontal dan Transovarial	14
2.3	Siklus Penularan DENV	16
2.4	Vektor Pembawa Virus Dengue	20
2.5	Perbedaan Morfologi <i>Ae. aegypti</i> dan <i>Ae. albopictus</i>	20
2.6	Pupa Nyamuk <i>Ae. aegypti</i>	21
2.7	Larva Nyamuk <i>Ae. aegypti</i>	22
2.8	Telur Nyamuk <i>Ae. aegypti</i>	22
2.9	Siklus Hidup Nyamuk <i>Ae. aegypti</i>	23
2.10	Ovitrap Standar dan Ovitrap Modifikasi	25
2.11	Skema Teori Patogenesis Infeksi Sekunder	29
2.12	Skema teori Patogenesis ADE	31
2.13	Manifestasi Klinis Infeksi DENV	34
5.1	Peta Wilayah Kota Makassar	56
5.2	Grafik Kasus DBD tahun 2007-2017	57
5.3	Peta Lokasi Penempatan Ovitrap	59
5.4	Hasil RT-PCR DENV pada nyamuk betina dewasa	65
5.5	Hasil RT-PCR DENV pada nyamuk betina dewasa	65

## DAFTAR TABEL

2.1	Metode isolasi virus.....	18
2.2	Kualifikasi infeksi dengue dan derajat keparahan DBD .....	37
5.1	Angka kejadian ( <i>Insidence Rate</i> ) di 30 kelurahan di Kota Makassar .....	58
5.2	Lokasi penempatan ovitrap dan hasil pemasangan di 30 kelurahan di Kota Makassar .....	60
5.3	Konsentrasi dan kemurnian hasil ekstraksi RNA sampel nyamuk jantan dan betina .....	62
5.4	Hasil deteksi DENV pada nyamuk betina dewasa <i>Ae. aegypti</i> .....	63
5.5	Hasil deteksi DENV pada nyamuk jantan dewasa <i>Ae. aegypti</i> .....	64





## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis data indeks ovitrap .....	89
Lampiran 2. Lembar penjelasan untuk responden .....	90
Lampiran 3. <i>Informed consent</i> .....	91
Lampiran 4. Bukti submit jurnal .....	92
Lampiran 5. Bukti <i>accepted</i> jurnal .....	93
Lampiran 6. Rekomendasi persetujuan etik .....	94
Lampiran 7. Surat keterangan plagiasi .....	95
Lampiran 8. Foto-foto kegiatan .....	96



## DAFTAR SINGKATAN

DD	: Demam Dengue
DSS	: Dengue Syok Sindrom
DBD	: Demam Berdarah Dengue
DENV	: <i>Dengue Virus</i>
RT-PCR	: <i>Reverse Transcriptase Poly Chain Reaction</i>
IR	: <i>Incidence Rate</i>
OI	: <i>Ovitrap Index</i>
MIR	: <i>Minimum Infection Rate</i>
CFR	: <i>Case Fatality Rate</i>
RNA	: <i>Ribonukleid Acid</i>
<i>Ae. aegypti</i>	: <i>Aedes Aegypti</i>



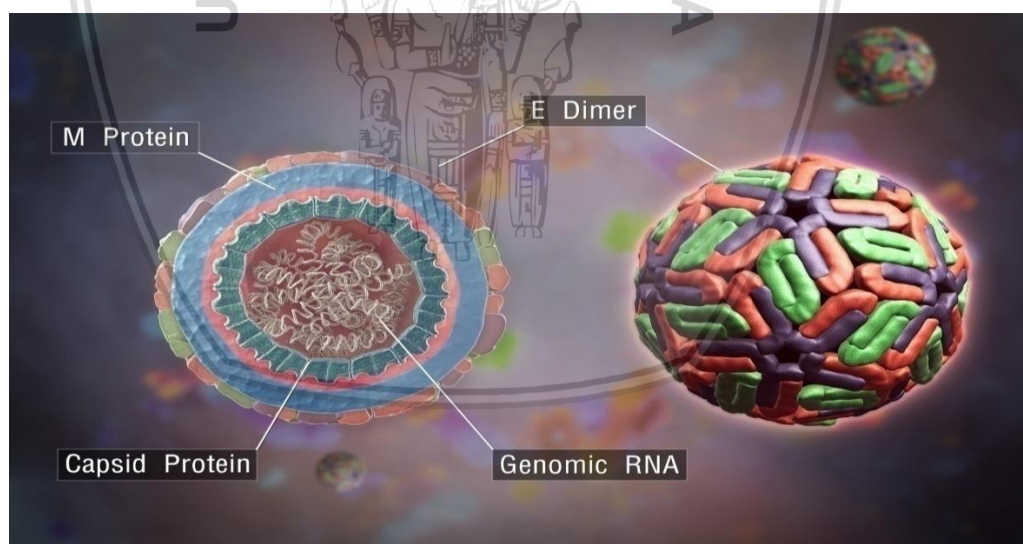
## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Virus Dengue (DENV)

##### A. Struktur

Virus dengue atau *dengue virus* (DENV) adalah virus dari kelompok genus Flavivirus dari famili Flaviviridae yang termasuk ARBO-virus (*Arthropod Bone Virus*) tipe B. Virus yang memiliki ukuran virion 50 nm ini mempunyai genom single-stranded RNA 10.7 kb yang menyandi tiga protein struktural yaitu protein inti atau Core (C), protein membrane (M) dan protein selubung (E). Selain itu genom ini juga menyandi tujuh protein non struktural (NS) yaitu NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B dan NS5 (Soedarto 2010; Fahri *et al.*, 2013;).



**Gambar 2.1 Struktur DENV.** Virus dengue memiliki genom *single stranded* RNA yang menyandi 3 protein struktural, protein inti/core (C), protein membrane (M) dan protein envelope (E). (*Scientific Animation*)

Protein inti (*core/C*) terdiri dari nukleokapsid dan protein C. Nukleokapsid dikelilingi oleh membran yang di sebut Envelope (E), sebuah *lipid bilayer* yang



diperoleh dari hoses. Di dalam *envelope* terdapat 180 copy protein E dan M yang terbentang di sepanjang lipid bilayer. Kedua protein ini membentuk lapisan pelindung luar yang berperan untuk mengendalikan masuknya virus ke dalam sel host (*Nature Education*, 2011).

Virus dengue masuk ke sel inang melalui reseptor *endocytosis*. Protein E pada permukaan virus berperan dalam penempelan, endositosis, dan fusi virus. Pelepasan lapisan virus terjadi di dalam bagian endosomal sel di lingkungan asam, virus melepaskan RNA nya ke dalam sitoplasma. proses translasi protein dimulai setelah *uncoating* virus (pelepasan lapisan). RNA awalnya menghasilkan poliprotein yang kemudian membelah menjadi single protein dalam lumen *endoplasmic reticulum* (ER) dan sitoplasma sel inang (Oliveira *et al.*, 2014).

Pembelahan prM, E, NS1 dan NS4B dilanjutkan dengan pembelahan protein non struktural lainnya dan protein C. Protease sel inang dan virus NS2B-NS3 diperlukan untuk pembelahan protein virus. Protein NS3 yang juga merupakan helicase yang bergabung dengan NS5, polimerase RNA, yang memungkinkan terjadinya replikasi virus di dalam kompleks virus dekat dengan membran sel di dalam sitoplasma. Protein E dan prM baru yang telah disintesis masuk ke dalam membran ER, sedangkan RNA yang baru disintesis bergabung dengan protein C untuk membentuk nucleocapsid di sitosol membran ER. Melalui mekanisme yang disebut "budding", nucleocapsid bergabung dengan membran mengikat prM dan E membentuk partikel virus yang baru di ER. Partikel-partikel virus ini ditransport ke apparatus golgi dan kemudian dibawa oleh sekretori vesikula ke permukaan sel (Sun & Kochel, 2013)

## B. Fungsi Protein Struktural dan Protein Non Struktural DENV

Protein Capsid DENV (C) memiliki berat molekul sekitar 12-14 kDa , dan mempunyai beberapa asam amino dasar seperti lisin dan arginin, yang memungkinkan protein untuk berinteraksi dengan genom virus untuk membentuk nukleokapsid. Protein prM merupakan protein yang memiliki berat molekul 18,1-19,1 kDa yang berasal dari pembelahan wilayah N-terminal protein M. Protein M merupakan protein yang memiliki berat molekul 8,2-8,5 kDa dan merupakan salah satu protein yang membentuk envelope (E) virus yang terlibat dalam penetrasi virus ke sel inang (Oliveira et al.,2014). Protein *envelope* ( E ) DENV merupakan komponen utama dari bagian eksternal virion, berperan dalam fenotipik dan imunogenik. Protein E merupakan protein yang multifungsi, terlibat dalam *binding* sel reseptor dan masuknya virus ke membran sel inang dengan cara fusi (Amarilla et al., 2009)

Protein NS1 merupakan glikoprotein yang memiliki berat molekul sekitar 45-50 kDa dan terdapat dalam berbagai bentuk, monomer, dimer dan heksamer dalam kompartemen sel yang berbeda dari sel serangga dan sel mamalia yang terinfeksi virus dengue (Oliveira,2014; Alcalá et al., 2017). NS1 berperan penting dalam pertahanan hidup DENV, namun tidak memiliki aktivitas biologi yang jelas. Selama masa infeksi, protein NS1 ditranslokasikan ke dalam retikulum endoplasma melalui rangkaian sinyal hidrofobik yang dilokalisasi pada ujung c-terminus protein E (LePoder et al.,2005) Protein NS1 ditemukan dalam bentuk membran atau bentuk solubel yang disekresikan oleh sel-sel yang terinfeksi sehingga dapat ditemukan dalam serum pasien pada fase awal terinfeksi dengan kadar yang tinggi, menunjukkan bahwa protein NS1 berkaitan dengan patogenesis DBD (Oliveira,2014; Alcalá et al., 2017).

Protein NS2A adalah protein yang berukuran kecil dengan berat molekul 22 kDa, bersifat hidrofobik dan berperan dalam proses replikasi RNA. Selain itu, protein NS2A juga berperan dalam memodulasi respon interferon inang dan dalam proses perakitan serta sekresi partikel virus (Leung *et al.*, 2008).

Protein NS2B adalah co-faktor untuk protein NS3, yang merupakan enzim multifungsional, bertindak sebagai protease untuk proses pembentukan poliprotein, sebagai RNA trifosfatase untuk capping RNA virus yang baru, dan sebagai helicase yang berfungsi membuka rantai ganda dari RNA. NS3 dan NS5 cukup konserve pada empat serotipe virus dengue (Oliveira *et al.*, 2014).

Protein NS3 berfungsi sebagai protease dengan menggunakan protein NS2B yang bertindak sebagai co-faktor. NS3 juga berperan dalam replikasi RNA virus RNA helicase, nucleotida 5'-triphosphate (NTPase), dan RNA 5'triphosphatase (Zeidler *et al.*, 2017). NS3 protease dan NS3 helicase merupakan enzim yang menjadi pusat replikasi flavivirus dan sintesis poliprotein. Pengetahuan tentang struktur dan fungsi dari protein ini secara menyeluruh penting untuk mengetahui siklus hidup flavivirus dan untuk mendesain antivirus yang efektif (Oliveira *et al.*, 2014).

Protein NS4 DENV merupakan protein kecil berukuran 16kDa yang bersifat hidrofobik. Fungsi protein ini belum diketahui secara pasti, namun penelitian terhadap virus lain dari kelompok *flavivirus*, menunjukkan bahwa protein ini terlibat dalam tahapan amplifikasi RNA virus. Protein NS4 diperkirakan menginduksi komponen replikasinya ke dalam membran sel inang (Miller *et al.*, 2007)

Protein NS5 adalah protein non struktural yang terbesar yang dimiliki virus Dengue dengan berat molekul 104 kDa. Protein ini paling konserve di keempat serotipe virus Dengue dan enzim bifungsional yang menjadi target pengobatan.



Protein NS5 memiliki domain *methyltransferase* (MTase) di ujung N-terminal dan *RNA-dependent RNA* (RdRp) polimerase pada akhir C-terminal dimana residu pada enzim ini terlibat dalam interaksinya dengan protein NS3 (Oliveira et al., 2014; Sahili & Lescar, 2017)

### C. Jenis Serotipe

Seperti virus RNA lainnya DENV memiliki karakteristik genetik yang ditunjukkan dengan adanya variasi antigenik dalam serotipe. Saat ini dikenal 4 jenis serotipe (DENV-1, DENV-2, DENV-3 dan DENV-4) yang secara genetik berasal dari sumber yang sama. Infeksi salah satu serotipe akan memberikan kekebalan seumur hidup terhadap serotip tersebut, namun tidak bagi serotipe virus lainnya. Infeksi kedua dari serotip yang berbeda dapat menyebabkan terjadinya DBD atau DSS. (Soedarto, 2012)

Empat jenis serotipe DENV ada di Indonesia, namun penyebaran dan distribusinya berbeda. Di beberapa kota seperti Surabaya dan Jayapura didominasi oleh DENV-1, sedangkan kota lainnya didominasi oleh jenis serotipe lainnya (Sasmono et al, 2012)

Serotipe DENV memiliki perbedaan dalam ukuran, DENV-1 memiliki ukuran *base pair* terpanjang yaitu 482 bp ssRNA, DENV-2 berukuran 119 bp ssRNA, DENV-3 berukuran 290 bp ssRNA sedangkan DENV-4 memiliki ukuran 392 bp ssRNA (Paisal et al, 2016). Keempat serotipe ini juga memiliki perbedaan dalam lokalisasi protein NS5. Protein NS5 merupakan protein yang berukuran paling besar (~105 kd), memiliki aktivitas enzimatis metiltransferase dan guaniltransferase yang diperlukan untuk penambahan tudung (*capping*), serta berperan dalam replikasi RNA virus. Protein NS5 DENV-2 dan -3 terakumulasi di

nukleus selama terjadi infeksi, sedangkan protein NS5 DENV-1 dan DENV-4 terlokalisasi di sitoplasma inang (Hannemann *et al*, 2013; Pangerapan & Kolondam, 2015)

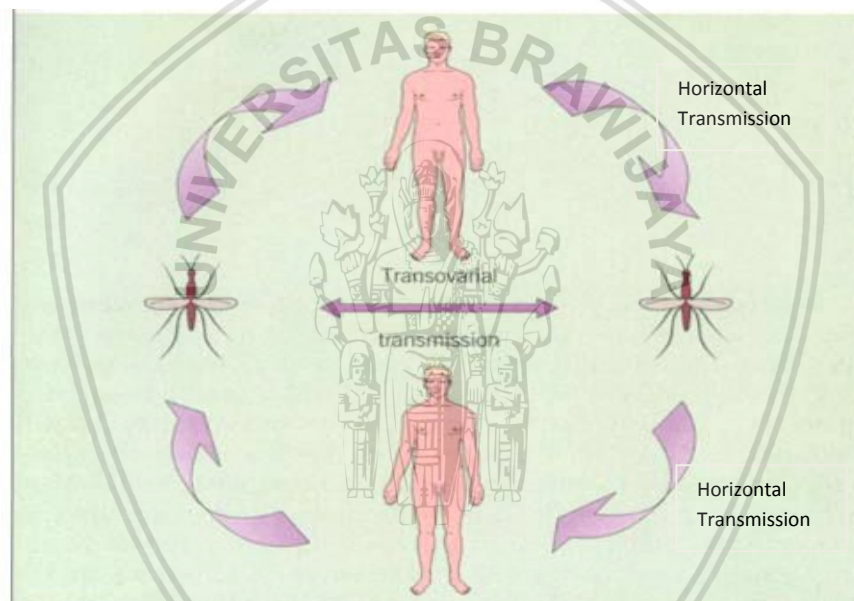
Serotipe ke 5 DENV yang terdeteksi pada saat dilakukan *screening* sampel penderita infeksi Dengue di Serawak, Malaysia, pada Oktober 2013. Serotipe ini awalnya terindikasi merupakan virus DENV-4, tetapi hasil sekuen secara menyeluruh memperlihatkan adanya perbedaan *phylogenetic* terhadap 3 bentuk dari DENV-4 dan serotipe ke 5 ini juga memiliki kemiripan dengan DENV-2 (Mustafa *et al.*, 2014). DENV serotipe 5 menghasilkan rangkaian antibody yang khas pada sel inang, serta memiliki titer lebih tinggi empat kali lipat dibandingkan serotipe lainnya (Hardani *et al.*, 2018) Penemuan ini menjadi tantangan bagi pengembangan anti dengue dan vaksin yang didasarkan keempat serotipe DENV sebelumnya, sekaligus menjadikannya kandidat yang potensial untuk memperbaiki pedoman diagnosis, pengobatan, pencegahan dan pengendalian dari infeksi Dengue (Robinson, 2016)

#### D. Penularan dan penyebaran DENV

##### a. Mekanisme transmisi (penularan) DENV

Manusia menjadi sumber infeksi primer dari DENV. Beberapa hewan primata di Afrika dan Asia juga dapat menjadi hospes namun tidak menimbulkan gejala klinis. Nyamuk terinfeksi oleh DENV setelah menghisap darah dari hospes atau manusia yang membawa DENV di darahnya (viremia). Virus yang menginfeksi nyamuk kemudian berkembang di dalam *midgut* nyamuk, menginfeksi kelenjar ludah (*salivary glands*) serta jaringan tubuh yang lain. Setelah 8-12 hari masa inkubasi nyamuk dapat menularkan virus *Dengue* ke hospes lain sepanjang hidupnya. Mekanisme penularan atau transmisi ini dikenal dengan transmisi horisontal (Soedarto, 2012).

Penularan virus Dengue juga dapat terjadi secara vertikal (*transovarial*), yaitu penularan virus Dengue dari nyamuk betina ke ovum di dalam uterusnya atau penularan dari nyamuk jantan yang terinfeksi ke nyamuk betina ketika terjadi proses kopulasi. Transmisi secara vertikal ini yang menjadi penyebab penularan virus Dengue tidak pernah berhenti terjadi karena sekali nyamuk terinfeksi oleh virus Dengue, virus tersebut akan terus berada dalam tubuh nyamuk sepanjang hidupnya, dan nyamuk ini juga terus berkembang biak sepanjang musim (Wanti *et al*, 2013).



**Gambar 2.2 Transmisi virus dengue.** Transmisi terjadi melalui dua mekanisme yaitu horizontal yang terjadi ketika nyamuk terinfeksi virus Dengue secara viremik dari manusia yang telah terinfeksi dan menularkan kepada manusia sehat, dan transmisi vertikal (*transovarial*) ketika nyamuk betina menularkan virus Dengue kepada telurnya dan menghasilkan larva yang infeksius (Tsai *et al.*, 2005)

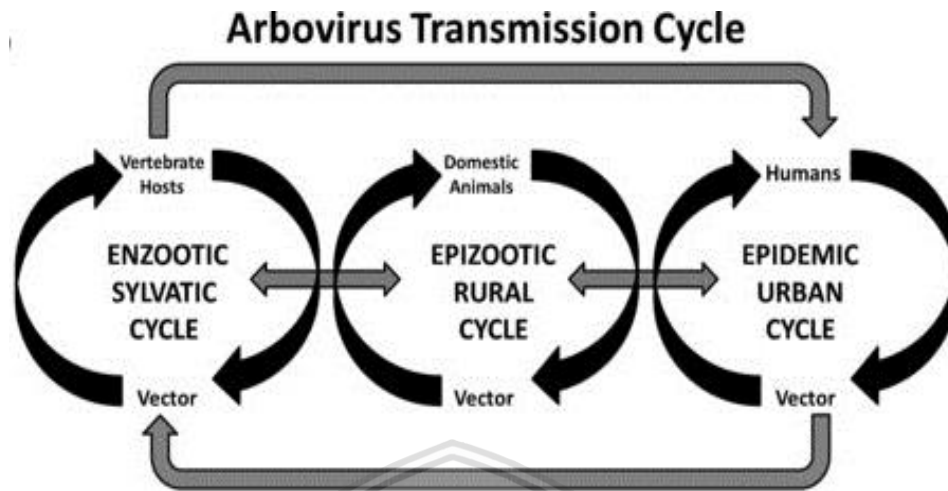
b. Siklus transmisi (penularan) DENV di alam melalui 3 siklus

1. Siklus enzootik, yaitu siklus silvatic primer yang terjadi di Afrika dan Asia melalui siklus kera-*Aedes sp*-kera, nyamuk *Aedes sp* terinfeksi secara



viremik dari kera yang terinfeksi virus kemudian menginfeksi kera sehat lainnya. Virus dengue semua serotip yang dapat diisolasi dari kera menunjukkan virus ini tidak dapat menyebabkan patogen pada kera dan viremia hanya terjadi dalam waktu 2-3 hari. Meskipun transmisi silvatik terbatas di wilayah hutan, terdapat bukti yang menjelaskan bahwa virus ini masuk ke populasi manusia di Asia Tenggara dan Afrika. Virus ini dapat menyebabkan penyakit yang parah bukan hanya pada wilayah-wilayah perkotaan tetapi juga pada wilayah yang terisolasi (Soedarto,2012; Vasilakis *et al.*,2012)

2. Siklus epizootik, virus ini menular melalui vektor nyamuk yang menyebar dari manusia yang terinfeksi ke nyamuk *Aedes sp* melalui hisapan darah, kemudian menyebarkan ke kera (manusia-*Aedes sp*-kera). Virus ini dapat menyebabkan epidemi virus pada kera
3. Siklus epidemik, yang terjadi melalui siklus manusia- *Aedes*-manusia dengan epidemik periodik/siklik. Umumnya semua serotipe Dengue dapat bersirkulasi dalam darah dan meningkatkan hiperendemisitas. Walaupun kepekaan *Aedes aegypti* rendah jika terinfeksi secara oral, karena antrofilik dan *multiple feeding* yang dimilikinya menjadikan nyamuk ini menjadi vektor dengue yang paling efektif.



**Gambar 2.3 Siklus transmisi DENV (golongan arbovirus).** Siklus transmisi DENV yang dapat bertahan di alam dalam siklus enzimatik yang melibatkan vektor Arthropoda (nyamuk *Aedes aegypti*) dan inang vertebrata dan manusia (Anez *et al.*, 2012)

## 2.2. Identifikasi DENV

Ada beberapa metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan virus Dengue baik pada manusia sebagai hospesnya maupun pada nyamuk sebagai vektor.

1. Pemeriksaan serologis, pemeriksaan ini dilakukan berdasarkan dari adanya antigen dan timbulnya antibodi penderita yang terjadi setelah infeksi. Deteksi antigen virus dilakukan dengan pemeriksaan protein NS1 yang merupakan produk gen yang diproduksi oleh glycoprotein yang hanya disekresikan oleh mamalia dan tidak oleh serangga (WHO,2011). Ada beberapa cara pemeriksaan serologis antara lain :

### a. *Haemagglutination Inhibition* (HI)

Uji HI merupakan uji yang dilakukan dengan menggunakan 2 serum darah, di mana specimen kedua diambil pada fase konvalensensi (fase penyembuhan). Hasil ini walaupun merupakan pemeriksaan *gold standar* namun tidak dapat memberikan hasil yang cepat.

b. *Enzym-linked immunosorbent assay (ELISA)*

Dalam dua dekade terakhir, *enzym-linked immunosorbent assay (ELISA)* menjadi tes serologis yang paling banyak digunakan untuk mendiagnosis infeksi virus dengue karena tingkat kepekaan dan spesifitas yang tinggi dari pengujian ini (Vasques et al., 2003). Ada beberapa jenis ELISA yang digunakan untuk mendeteksi infeksi dengue, yaitu :

- IgM capture ELISA

Pengujian Mac ELISA berdasarkan pada deteksi antibody IgM pada serum dengan menangkap antibodi tersebut menggunakan *anti-human IgM* dilanjutkan dengan penambahan antigen spesifik virus dengue (DENV 1-4) (CDC,2017)

- IgG ELISA

Pengujian IgG ELISA digunakan untuk mendeteksi infeksi virus dengue pada masa setelah infeksi. Pengujian ini menggunakan antigen yang sama dengan MAC ELISA dan berkorelasi dengan pengujian HI yang sebelumnya digunakan. Infeksi dengue primer versus sekunder dapat ditentukan dengan menggunakan algoritma sederhana. Sampel dengan IgG negatif merupakan fase akut dan IgG positif adalah fase penyembuhan pada infeksi dengue primer (CDC, 2017)

c. *Dengue Rapid Test (DRT)*

Deteksi cepat antigen Dengue menggunakan DRT prinsipnya sama dengan pemeriksaan ELISA, pemeriksaan ini dilakukan untuk mendeteksi glikoprotein NS1 (*rapid tes NS1*) atau IgG dan IgM (*rapid tes IgM-IgG*) (WHO,2011)

d. Uji Imunositokimia dengan menggunakan streptavidin-biotin, uji ini juga dapat dilakukan pada penderita dan nyamuk. Pada penderita, uji ini dilakukan untuk mendeteksi antigen virus yang terdapat pada monosit secara *in vitro* anti monoklonal kompleks (Wuryaningsih dan Soegijanto, 2012).

## 2. Isolasi virus dan pemeriksaan virus dengan metode PCR

Virus dengue dapat diisolasi dari beberapa jenis sampel seperti serum, plasma dan dari sel-sel mononuklear darah tepi. Isolasi juga dapat dilakukan pada beberapa jaringan semisal hati, kelenjar limfe dan sumsum tulang. Isolasi virus merupakan cara yang paling konklusif untuk penentuan infeksi dengue dan serotipenya (Depkes RI, 2005; Soedarto, 2012). Setelah isolasi virus dilakukan pemeriksaan dengan metode PCR, pemeriksaan ini dapat menentukan virus DENV atau bagiannya (RNA). Dengan pemeriksaan ini dapat ditentukan jenis serotipe yang ada pada penderita atau pada nyamuk. Pada nyamuk, pemeriksaan dengan metode ini dapat dilakukan pada fase larva maupun pada nyamuk dewasa

**Tabel 2.1 Metode Isolasi DENV (WHO,2011)**

Metode yang direkomendasikan	Konfirmasi infeksi virus Dengue
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inokulasi nyamuk</li> <li>• Inokulasi kultur sel, C6/36, klon sel dari <i>Ae.albopictus</i></li> <li>• Inokulasi kultur mamalia, sel vero, LLCMK2 dan BHK21</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Virus Dengue pada umumnya bereplikasi (titer tinggi) dalam hitungan jam sampai beberapa hari</li> <li>• Kehadiran antigen di metode pencet kepala dilakukan dengan immunofluorescence (IFA)</li> <li>• Kehadiran antigen dalam sel dideteksi dengan imunofluorescence (IFA). Titer virus dideteksi dengan RT-PCR</li> <li>• Efek sitopatik dan pembentukan plak pada sel mamalia (kurang efisien)</li> </ul>



## 2.2 Nyamuk *A. aegypti* sebagai vektor penyebar DENV

### A. Klasifikasi Nyamuk *Ae. aegypti*

Klasifikasi *Ae. aegypti* (Knight and Stone, 1977) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Animalia
Phylum	: Arthropoda
Class	: Insecta
Orde	: Diptera
Famili	: Culicidae
Subfamili	: Culicinae
Genus	: <i>Aedes</i>
Species	: <i>Ae. aegypti</i>

### B. Morfologi

#### a. Nyamuk dewasa

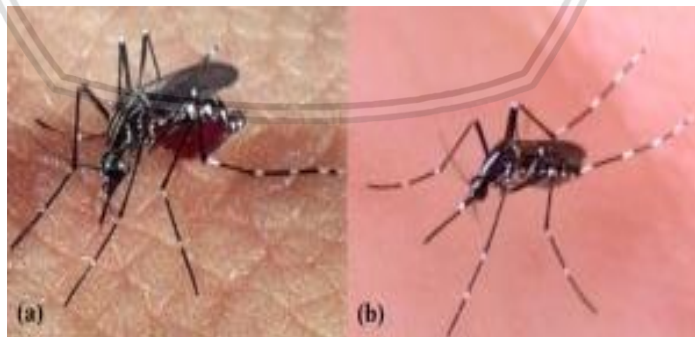
Nyamuk dewasa *Ae. aegypti* memiliki ukuran yang lebih kecil dibandingkan dengan rata-rata nyamuk jenis lain. Nyamuk ini juga dikenal dengan sebutan *Tiger mosquito* atau *Black white mosquito* karena memiliki tubuh yang warna dasar hitam dengan bintik-bintik putih keperakan pada bagian badan dan kaki (Depkes RI, 2005, Palgunadi & Rahayu, 2011)

Pada bagian mulut *Ae. aegypti* yang bertipe menusuk dan mengisap (*rasping-sucking*), terdapat enam stilet yaitu gabungan antara mandibula, maxilla yang bergerak naik turun menusuk jaringan hingga menemukan pembuluh darah kapiler dan mengeluarkan ludah yang berfungsi sebagai cairan racun dan antikoagulan (Sembel, 2009)



**Gambar 2.4 Vektor pembawa virus Dengue.** Nyamuk *Ae. aegypti* betina secara morfologi memiliki ukuran tubuh yang lebih besar dari nyamuk *Ae. aegypti* jantan (<http://kespel.depkes.go.id>)

Morfologi *Ae. aegypti* secara makroskopis mirip dengan *Ae. albopictus*, tetapi berbeda pada bagian punggung (mesonotum). Bagian punggung *Ae. aegypti* memiliki dua garis lengkung dan dua garis putih, sedangkan pada *Ae. albopictus* pada bagian punggungnya hanya memiliki satu strip putih. Pada bagian mesepimeron *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* terdapat perbedaan. Bagian anterior pada femur kaki tengah *Ae. aegypti* terdapat strip putih memanjang sedangkan pada *Ae. albopictus* strip putih tersebut tidak terlihat.



**Gambar 2.5 Perbedaan morfologi *Ae.aegypti* dan *Ae.Albopictus*.** Perbedaan morfologi nyamuk *Aedes* sp terlihat dari dua garis lengkung dan dua garis putih pada mesonotum *Ae.aegypti* (a), sedangkan pada mesonotum *Ae. albopictus* hanya terdapat satu garis putih (b) (CDC)

b. Pupa

Pada saat berbentuk pupa, bentuknya seperti 'koma' dan berukuran lebih besar namun lebih ramping dibandingkan pada saat fase larva. Fase pupa tidak memerlukan makanan, namun akan tetap aktif di dalam air terutama jika terganggu. Pupa akan bergerak naik turun dari bagian dasar ke permukaan air (Sambel, 2009). Pupa *Ae. aegypti* juga memiliki ukuran yang lebih kecil dibandingkan jenis nyamuk yang lain (Depkes RI, 2005).



**Gambar 2.6 Pupa *Ae. aegypti*.** Pupa nyamuk *Ae. aegypti* yang berbentuk menyerupai "koma" di dalam air. Pupa *Ae. aegypti* memiliki tabung atau terompet pernafasan yang berbentuk segitiga (Sumber : CDC)

c. Larva

Larva nyamuk *Aedes aegypti* memiliki 4 tingkatan (instar) larva sesuai dengan pertumbuhan larva tersebut (Depkes RI, 2005) :

1. Instar I : berukuran paling kecil, yaitu 1-2 mm
2. Instar II : 2,5-3,8 mm
3. Instar III : lebih besar sedikit dari larva instar II
4. Instar IV : berukuran paling besar 5 mm



**Gambar 2.7 Larva *Ae. aegypti*.** Larva nyamuk *Ae. aegypti* di dalam air, memiliki siphon besar dan pendek yang terdapat pada abdomen terakhir dan memiliki comb yang berbentuk sisir. (Sumber : CDC)

#### d. Telur

Telur *Ae. aegypti* memiliki ukuran  $\pm 80$  mm, berwarna hitam dan berbentuk oval yang mengapung satu-satu pada permukaan air yang jernih atau menempel di dinding tempat penampungan air (Depkes RI, 2005).



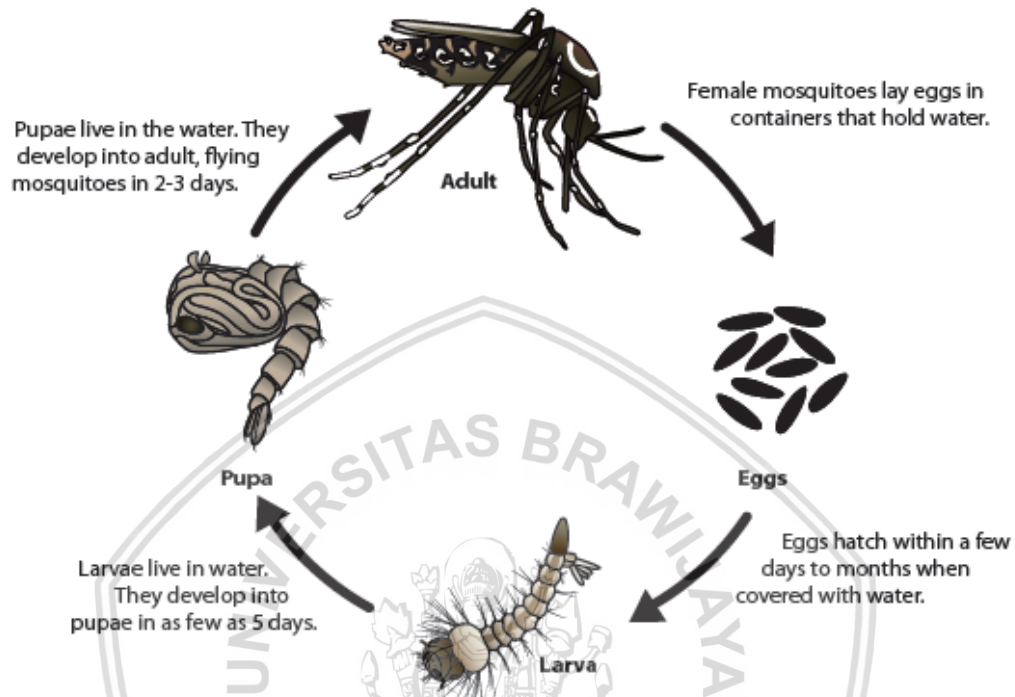
**Gambar 2.8 Telur *Ae. aegypti*.** Telur nyamuk *Ae. aegypti* yang berbentuk oval berwarna hitam dan terpisah satu dengan yang lainnya. Telur *Ae. aegypti* dapat bertahan hingga satu tahun dalam kondisi kering (Sumber : CDC)

#### C. Siklus hidup

Nyamuk *Ae. aegypti* mengalami tahapan metamorphosis sempurna, yaitu telur-larva-pupa dan nyamuk, di mana stadium telur, larva dan pupa hidup di dalam air. Setelah terendam di air selama kurang lebih 2 hari, telur akan menetas menjadi larva. Dalam kondisi yang optimal, perkembangan larva menjadi nyamuk dewasa membutuhkan waktu 7 sampai 10 hari. Namun, jika suhu rendah masa



perkembangan larva sampai menjadi nyamuk dewasa menjadi lebih lama hingga beberapa minggu (Soedarto, 2012; Depkes RI, 2005).



**Gambar 2.9 Siklus hidup *Ae. aegypti*.** Nyamuk betina *Ae. aegypti* dapat bertelur sebanyak 50-120 butir telur, ketika terendam air telur dapat menetas menjadi larva dalam waktu 1-2 hari. Dalam kondisi yang optimal larva berkembang menjadi pupa dalam kurun waktu 5 hari, dan 2 hingga 3 hari berikutnya pupa berkembang menjadi nyamuk dewasa. (<https://www.cdc.gov/dengue>)

Setelah nyamuk dewasa keluar dari pupa, nyamuk akan beristirahat di kulit pupa untuk sementara waktu hingga sayap mereka meregang dan menjadi kaku yang memungkinkan nyamuk dapat terbang untuk mencari mangsa. Nyamuk *Aedes* jantan juga akan segera melakukan kopulasi dengan nyamuk betina dan dalam waktu 24-36 jam setelah nyamuk betina akan mengisap darah yang menjadi sumber protein untuk pematangan telur dan telur akan dikeluarkan. Jangka waktu yang diperlukan untuk perkembangan telur dari nyamuk mengisap darah sampai telur dikeluarkan disebut siklus gonotropik. Siklus gonotropik biasanya bervariasi antara

3-4 hari. Untuk melengkapi satu siklus gonotropik, seekor nyamuk betina *Aedes aegypti* dapat berkali-kali mengisap darah untuk memenuhi lambungnya, sehingga nyamuk ini menjadi sangat efektif untuk menularkan penyakit (Soedarto, 2012; Depkes RI, 2005).

Setelah mengisap darah, nyamuk akan beristirahat di dalam atau di luar rumah yang dekat dengan perkembangbiakannya. Biasanya di ruangan-ruangan atau tempat-tempat yang gelap, lembab dan tersembunyi. Di tempat inilah nyamuk menunggu pematangan telurnya. Setelah proses pematangan telur selesai, nyamuk betina akan meletakkan telurnya di dinding tempat perkembangbiakannya, di dekat permukaan air. Nyamuk betina dapat mengeluarkan telur hingga 100 butir, setiap kali bertelur dan telur-telur itu dapat bertahan hingga berbulan-bulan jika berada di tempat yang kering dan pada suhu  $-2^{\circ}\text{C}$  sampai  $42^{\circ}\text{C}$ . Jika terendam air, maka telur akan menetas dalam waktu kurang lebih 2 hari (Depkes RI, 2005).

#### D. Pengendalian vektor DENV

Salah satu kegiatan monitoring (*surveillance*) keberadaan vektor DENV yang dilakukan sebagai upaya pembatasan meningkatnya populasi *Ae. aegypti* adalah melalui kegiatan indeks larva *Ae. aegypti* yang menjadi indikator keberadaan vektor tersebut. Selain penggunaan indeks larva, pengamatan survei telur dan survei nyamuk juga menjadi indikator populasi keberadaan nyamuk ini. Kegiatan monitoring dengan cara survei telur memasang ovitrap dinilai sangat efektif untuk mendeteksi keberadaan nyamuk *Aedes sp* di suatu daerah, bahkan pada tingkat populasi yang rendah (Polson, 2002; Latifa *et al.*, 2013).

Ovitrap merupakan perangkap telur yang digunakan untuk mengendalikan *Aedes sp* yang tidak menggunakan bahan insektisida. Metode ini cukup efektif dan

berhasil untuk menurunkan jumlah kepadatan vektor di beberapa Negara (Wahida *et al*, 2016). Metode ovitrap ini pertama kali dikembangkan oleh Fay dan Eliason (1966) pada tahun 1966 untuk survei telur dan larva *Ae.aegypti*, di Florida Selatan, Amerika .Pada tahun 2001, Singapura mengaplikasikan penggunaan 2000 ovitrap yang disebar di wilayah-wilayah yang rawan terinfeksi Dengue untuk memonitoring dan mengendalikan penyakit DBD (Teng, 2001).



**Gambar 2.10 Model ovitrap.** Ovitraps standar berdasarkan standar WHO menggunakan dayung kayu sebagai ovistrip (a), modifikasi ovitrap yang digunakan berdasarkan Lenhart *et al* (2005), menggunakan kertas saring/kain kasa sebagai ovistrip (b).

Sejak pertama kali dikembangkan, telah banyak dilakukan modifikasi-modifikasi ovitrap yang dilakukan beberapa peneliti untuk mendapatkan hasil yang lebih efektif. Modifikasi dilakukan pada wadah ovitrap juga pada atraktan (umpan) yang digunakan. Polson *et al* (2002) menambahkan 10% air rendaman jerami pada atraktan dan mendapatkan hasil persentase pengumpulan telur berkisar 15.56-54.55%, lebih besar dari atraktan tanpa penambahan air rendaman jerami dengan persentase 6.67-34.88%. Thavara *et al* (2004) membandingkan beberapa jenis atraktan yang berasal dari rendaman hewan molusca dan menyimpulkan bahwa rendaman kerang dari spesies *Phapia undulate* dan udang windu memberikan hasil

yang terbaik untuk menarik nyamuk betina *Ae. aegypti* menempatkan telurnya baik di laboratorium maupun di alam. Penelitian lainnya juga mendapatkan hasil yang serupa, ketika membandingkan atraktan dari rendaman cangkang udang windu, rendaman jerami dan air rendaman darah ayam. Air rendaman cangkang udang windu lebih disukai nyamuk *Aedes sp*, karena mengandung sisa protein atau hasil metabolisme dan senyawa kimia baik dalam bentuk gas atau cair. Selain itu feses udang windu mengekresikan ammonia dan karbondioksida yang disukai nyamuk *Aedes* (Prasetyo dan Yulianto, 2016).

Modifikasi wadah ovitrap dilakukan oleh Lenhart *et al* (2005), menggunakan wadah plastik berukuran 300 ml yang berwarna biru gelap. Pada bagian dalam wadah direkatkan kain kasa pengganti dayung kayu yang digunakan sebagai ovitrap tempat nyamuk meletakkan telurnya. Ovitrap hasil modifikasi ini memberikan hasil sebesar 16%, lebih baik dibandingkan ovitrap standar sebesar 8,5%.

## 2.3 Infeksi DENV

### A. Epidemiologi Infeksi DENV

Dengue merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh DENV dan mengakibatkan manifestasi klinis dengan spektrum yang bervariasi, ditularkan oleh nyamuk *Ae. aegypti* dan *Ae. albopictus* yang terinfeksi DENV. Gejala yang ditimbulkan bervariasi antara yang paling ringan yaitu demam dengue (DD), Demam Berdarah Dengue (DBD) dan demam dengue yang disertai renjatan atau *dengue shock syndrome* (DSS) (Candra, 2010). Kasus infeksi DENV telah mengalami peningkatan sejak tahun 1970, di mana endemik dengue hanya tersebar di sembilan negara. Kasus dengue kini endemik di lebih 100 negara Afrika, Amerika,



Mediterania, Asia Tenggara dan Pasifik Barat (WHO,2017). Meningkatnya infeksi DENV terjadi karena adanya penyebaran DENV ke negara-negara baru dan dari daerah perkotaan ke lokasi pedesaan. Penyebaran DENV ke negara-negara baru terbukti dengan adanya laporan kasus demam dengue di Perancis dan Kroasia untuk pertama kalinya pada tahun 2010 (Candra, 2010; WHO, 2017)

Penyebaran DENV dilaporkan lebih banyak terjadi di daerah urban (perkotaan) dibandingkan di daerah rural (pedesaan). Hal ini terjadi karena nyamuk *Ae.aegypti* berkembang biak di genangan air yang terdapat di wadah buatan yang terdapat di dalam atau sekitar rumah, dan juga *Ae. albopictus* yang berkembang biak di wadah alami di sekitar pemukiman yang terdapat banyak tanaman (Soedarto, 2012). Penyebaran penyakit DBD, salah satu variasi gejala klinis dari infeksi DENV, di seluruh kawasan kabupaten maupun kota semakin luas. Jumlah kabupaten dan kota yang telah terjangkiti penyakit ini semakin meningkat bahkan sampai ke pedalaman. Jumlah penduduk yang meningkat, urbanisasi tak terencana dengan baik, pengendalian vektor di daerah endemis tidak efektif dan meningkatnya transportasi antara daerah di Jawa dan luar Jawa, menjadi faktor meningkatnya penyebaran DBD (Syahril *et al.*, 2015; Soedarto, 2012).

Kejadian luar biasa (KLB) penyakit DBD juga sering terjadi sehingga angka kesakitan dan kematian merupakan gambaran umum yang terjadi di masyarakat. Angka kejadian DBD secara nasional berfluktuasi dari tahun ke tahun. Pola epidemik awalnya terjadi setiap lima tahunan, namun dalam lima belas tahun terakhir terjadi perubahan pola dengan periode antara 2-5 tahunan, selain itu angka kematian akibat DBD cenderung menurun (Syahri *et al.*, 2015).

Beberapa tahun terakhir, kasus DBD muncul di musim pancaroba ,khususnya bulan Januari di awal tahun. Data Kementerian Kesehatan RI menyebutkan, pada

tahun 2014 di 34 provinsi di Indonesia tercatat sebanyak 71.668 orang penderita DBD dan 641 di antaranya meninggal dunia. Angka tersebut lebih rendah dibandingkan tahun sebelumnya, pada tahun 2013 jumlah penderita mencapai 112.511 orang dengan angka kematian sebanyak 871 orang. Di Makassar kasus DBD lima tahun terakhir berfluktuasi, namun cenderung menurun dari 265 kasus pada tahun 2013 dengan 11 angka kematian menjadi 139 kasus dan pada tahun 2014 dengan 2 angka kematian. Pada tahun 2015 dan 2016, kasus DBD kembali meningkat menjadi 142 kasus dan 250 kasus. (Dinas Kesehatan Kota Makassar, 2017)

#### B. Patogenesis Infeksi DENV

Informasi tentang patogenesis infeksi DENV yang berkaitan tentang dasar-dasar molekul pengikatan DENV pada target sel belum banyak diketahui, Beberapa hasil penelitian menunjukkan adanya interaksi antara reseptor dengan protein *envelope* DENV, yang berperan dalam proses perakitan virion, ikatan reseptor serta penggabungan membran, dan sel target (Soegijanto *et al.*, dalam Soegijanto, 2012).

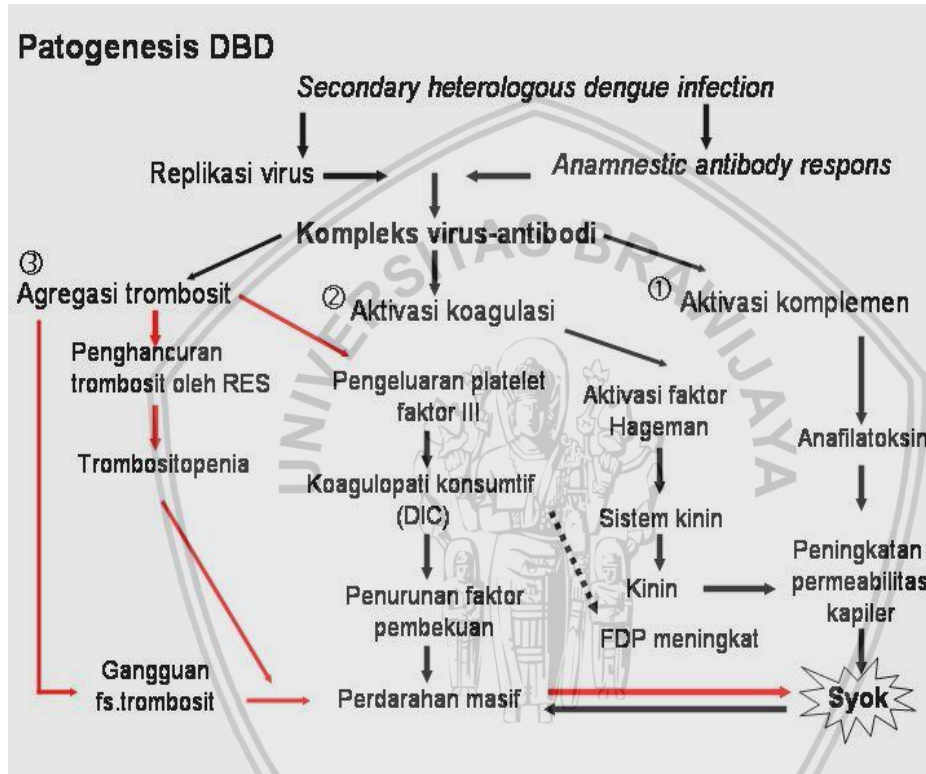
Pada saat DENV menginfeksi manusia melalui gigitan nyamuk *Ae. aegypti* atau *Ae. albopictus*, virus akan masuk ke pembuluh darah dan akan menginfeksi sel Langerhans yang *immature (epidermal dendritic cell/DC)* dan keratinosit. Sel yang terinfeksi kemudian akan bermigrasi menuju *lympa nodus* di mana monosit dan makrofag direkrut dan merupakan target infeksi (Martina *et al.*, 2009). Beberapa penelitian menunjukkan peranan monosit dan makrofag dalam memfagositosis DENV di peredaran darah (Soegijanto, 2012).

Infeksi terjadi ketika di dalam sel monosit dan makrofag, DENV mampu bertahan dan melakukan multiplikasi. DENV kemudian melakukan penempelan

genom virus ke dalam sel-sel dengan bantuan organel-organel sel dan mulai membentuk komponen perantara dan komponen strukturalnya. Setelah proses perakitan virus selesai, virus kemudian dilepaskan dari dalam sel (Soegijanto, 2012).

Ada beberapa teori yang menjelaskan patogenesis infeksi DENV, antara lain :

a. Teori infeksi sekunder (*secondary heterologous infection theory*)



**Gambar 2.11 Skema teori patogenesis infeksi sekunder.** Infeksi DENV menyebabkan terbentuknya kompleks antigen-antibodi yang mengaktifasi sistem komplemen, menyebabkan agregasi trombosit dan mengaktifasi sistem koagulasi melalui kerusakan endotel pembuluh darah yang pada akhirnya menyebabkan perdarahan massif dan syok. (Soegijanto 2006)

Teori ini menjelaskan bahwa infeksi salah satu serotipe DENV memberikan kekebalan terhadap serotipe tersebut, namun tidak memberikan *cross-protective* terhadap serotipe lainnya. Infeksi sekunder dengan serotipe yang berbeda menyebabkan terbentuknya ikatan antibodi *heterologous* yang dihasilkan dengan

DENV yang berbeda (Sellaheewa, 2013). Kompleks antigen-antibodi melalui kerusakan endotel pembuluh darah kemudian mengaktivasi komplemen, menyebabkan agregasi trombosit dan mengaktifkan sistem koagulas (Soedarto,2012).

Pelekatan kompleks antigen-antibodi pada trombosit memicu pelepasan adenosine diphosphat (ADP) yang menyebabkan sel-sel trombosit akan saling melekat menjadi kumpulan trombosit. Sistem retikuloendotel (*reticuloendothelial system*–RES) akan menghancurkan kelompok trombosit tersebut yang mengakibatkan terjadinya trombositopeni (Soedarto, 2012).

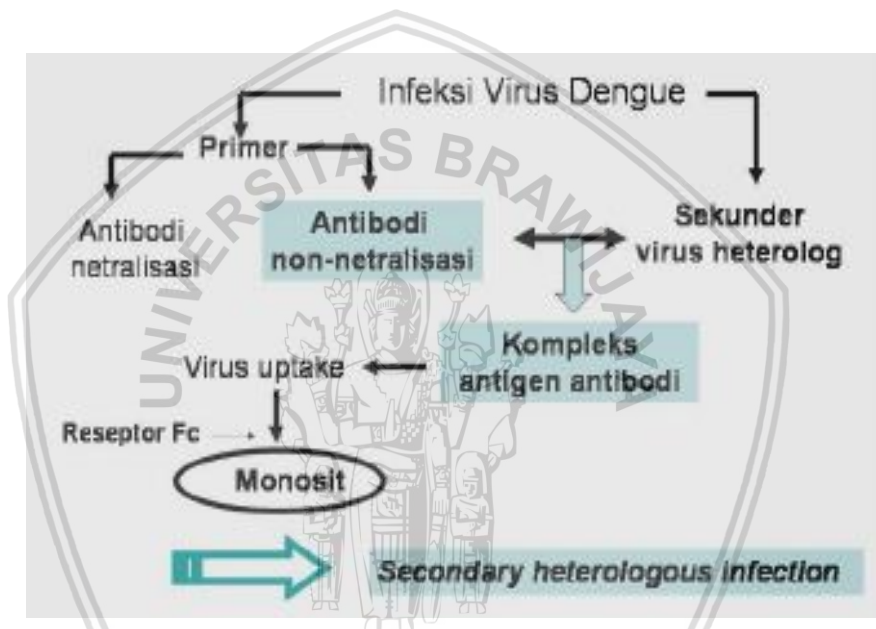
Agregasi trombosit menyebabkan terjadinya koagulasi konsumtif atau *dissemination intravascular coagulation* (DIC) akibat dari pelepasan platelet faktor III sehingga FDB (*fibrinogen degradation product*) meningkat. Hal ini menyebabkan terjadinya penurunan faktor pembekuan sehingga mengakibatkan perdarahan massif. Agregasi trombosit juga dapat menimbulkan gangguan fungsi trombosit. Perdarahan masif pada DBD juga disebabkan oleh aktivasi koagulasi yang mengaktifkan faktor Hageman yang kemudian mengaktifkan sistem kinin sehingga meningkatkan permeabilitas kapiler penyebab syok (Soedarto, 2012)

Kompleks antigen-antibodi juga akan merangsang aktivasi komplemen, melepaskan C3a dan C5a, yang akan menyebabkan peningkatan permeabilitas kapiler sehingga terjadi kebocoran plasma ke ruang ekstrasvaskuler yang menyebabkan syok. Kebocoran plasma dapat diketahui dengan adanya peningkatan hematokrit, penurunan kadar natrium, terjadi efusi pleura dan asitesis (Lei *et al.*, 2009 dan Soedarto, 2012)



b. Teori *Antibody Dependent Enhancement* (ADE)

Antibodi yang terbentuk dari infeksi DENV memiliki aktivitas netralisasi yang dapat mengenali protein E pada DENV. Protein E berfungsi sebagai epitop yang memiliki serotip spesifik yang dapat memberikan kekebalan terhadap infeksi DENV. Antibodi terhadap DENV juga memiliki aktivitas non-netralisasi, yang berperan sebagai *cross-reaktif* dan dapat meningkatkan infeksi DENV (Soegijanto, 2012)



**Gambar 2.12 Skema teori patogenesis ADE.** Pada teori ADE, terjadi proses yang meningkatkan replikasi DENV (virus uptake) di dalam sel mononuklir (Soegijanto, 2006)

Teori ADE menyatakan bahwa terdapat peran dari sel fagosit mononuklear yang merangsang terbentuknya antibodi non-netralisasi. Pada sel makrofag yang berada di jaringan terdapat banyak antigen Dengue, namun antibodi nonnetralisasi berupaya melekat pada sel makrofag yang beredar dan bukan pada sel makrofag yang ada di jaringan. Makrofag yang dilekati oleh antibodibodi nonnetralisasi memiliki sifat opsonisasi, internalisasi yang membuat sel mudah untuk diinfeksi. Makrofag yang terinfeksi menjadi aktif dan melepaskan sitokin-sitokin yang memiliki

sifat vasoaktif dan prokoagulasi antara lain IL-1, IL-6, TNF alpha dan *Platelet Activating Factor* (PAF). Sitokin-sitokin tersebut akan mempengaruhi sel-sel endotel dinding pembuluh darah dan system hemostatik yang akan mengakibatkan kebocoran plasma dan perdarahan (Soegijanto, 2012). Sitokin PAF merupakan mediator yang penting dalam kebocoran plasma dan perdarahan. Produksi PAF dipengaruhi oleh lipopolisakarida (LPS) dan sel mast, terbukti dengan meningkatnya kadar LPS pada penderita *severe dengue*, serta ditemukannya mediator *tryptase* dan fosfolipase sekretoris yang merupakan hasil produksi dari sel mast yang menjadi sumber PAF (Malavige, 2016).

#### c. Teori Virulensi

Teori ini menjelaskan kemampuan virus untuk menimbulkan penyakit pada inang yang disebut virulensi virus. Virulensi virus berperan untuk menginfeksi lebih banyak sel, membentuk virus progenik, menyebabkan reaksi inflamasi dan menghindari respon imun mekanisme efektor (Lei *et al.*, 2008)

Adanya perbedaan manifestasi klinis pada demam Dengue, Demam Berdarah Dengue dan Dengue Sindrom Syok kemungkinan disebabkan oleh variasi dari DENV dengan derajat virulensi yang berbeda (Lei *et al.*, 2008). Risiko untuk terkena Demam Berdarah Dengue lebih tinggi pada infeksi kedua dengan serotipe DENV-3, sedangkan serotipe DENV-4 ditemukan pada infeksi dengue yang lebih parah yaitu Dengue Sindrom Syok (Aryati *et al.*, 2008). Namun penelitian yang dilakukan Andriyoko *et al* (2012) pada 75 pasien infeksi DENV di RS Dr. Hasan Sadikin Bandung, menunjukkan serotipe DENV-3 dan DENV-2 lah yang menyebabkan manifestasi klinis yang lebih berat dibanding serotipe DENV-1 dan DENV-4.

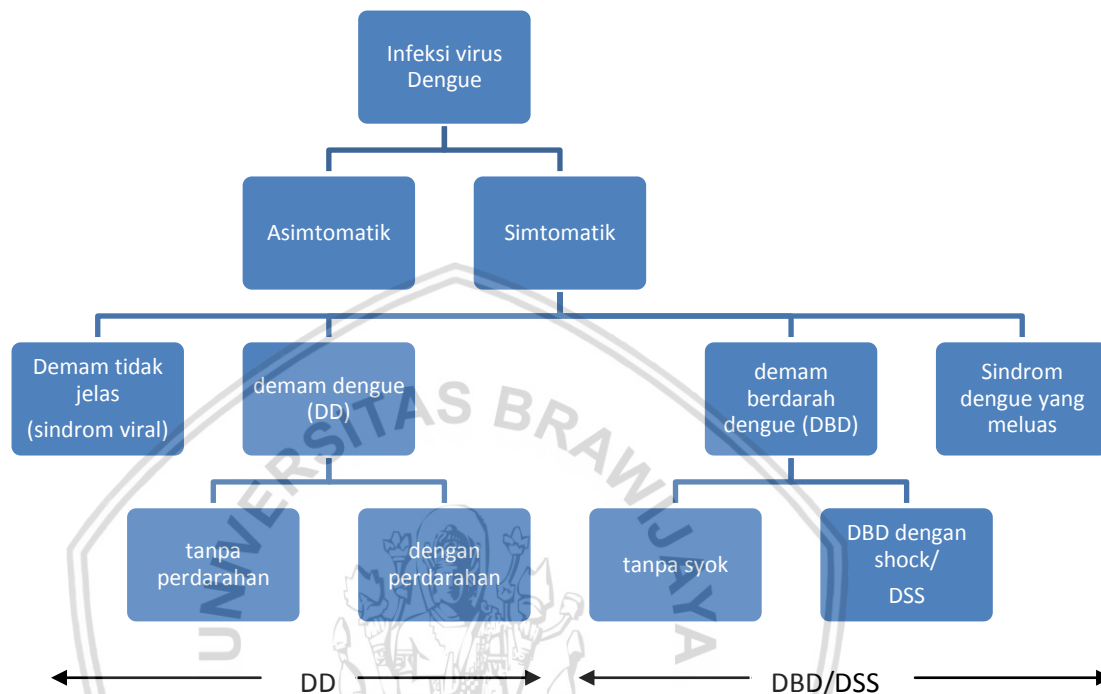
#### d. Teori apoptosis

Teori apoptosis menyatakan bahwa limfosit mengkode protease yang menginduksi apoptosis sel target. Infeksi virus menyebabkan limfosit teraktivasi ditunjukkan oleh tingginya kadar ekspresi Fas dan sangat rentan terhadap apoptosis. Adanya kerusakan hepar pada kasus DBD yang berat diduga karena adanya proses apoptosis pada sel hepar. Saat terjadi apoptosis, virus dan sel yang berserakan dimakan oleh makrofag atau terjadi proses fagositosis dan bukan virus yang bereplikasi dalam sel makrofag (Candra, 2010). Proses apoptosis yang terjadi akibat dari infeksi flavivirus diduga karena sel inang mengaktifkan jalur apoptosis biokimia ketika menghadapi flavivirus. Beberapa bukti menunjukkan bahwa infeksi virus dengue akan memicu apoptosis secara *in vitro* maupun *in vivo* (Courageot *et al.*, 2003; Liu *et al.*, 2013). Penelitian lain juga menunjukkan tingginya kadar sitokin proinflamasi dan proapoptosis seperti TNF- $\alpha$ , dan IL-10 serta Apo2L/TRAIL setelah infeksi (Roy *et al.*, 2014), memperlihatkan adanya proses apoptosis yang dipicu oleh capsid protein dari ke empat serotipe virus Dengue melalui jalur signaling ekstrinsik dan intrinsik (Morchang *et al.*, 2011; Eng *et al.*, 2016)

#### C. Manifestasi Klinis Infeksi Dengue

Infeksi virus dengue tidak selalu menunjukkan gejala (asimtomatik), atau menunjukkan gejala demam yang tidak jelas (sindrom viral), demam dengue (DD), demam berdarah dengue (DBD) atau terjadi *shock syndrome dengue* (DSS). Infeksi dengan salah satu serotipe dengue akan memberikan kekebalan tubuh terhadap serotipe tersebut, namun tidak memberikan *cross protective* terhadap serotipe lainnya. Manifestasi klinis dari dengue berbeda untuk setiap individu, tergantung dari

strain virus yang menginfeksi atau faktor *host* seperti sistem imun yang dimiliki (WHO,2011)



**Gambar. 2.13 Manifestasi infeksi DENV.** Manifestasi klinis infeksi DENV dibedakan menjadi asimtomatis (tanpa gejala) dan simtomatis (dengan gejala). Infeksi dengue dengan gejala dapat berupa demam yang tidak diketahui penyebabnya, demam dengue, demam berdarah dengue dan dengue syok sindrom (WHO,2011)

a. Demam tidak jelas (sindrom viral)

Infeksi virus dengue untuk pertama kalinya dapat menyebabkan demam sederhana yang tidak dapat dibedakan dengan infeksi virus lainnya. Hal ini dapat terjadi pada bayi, anak-anak ataupun orang dewasa (WHO, 2011).

b. Demam Dengue (DD)

Manifestasi klinis dari demam dengue biasanya tergantung pada usia penderita. Hal yang umumnya terjadi adalah demam klasik yang dimulai dengan demam mendadak, menggigil dan nyeri kepala yang parah, nyeri otot serta tulang

yang umumnya terjadi pada orang dewasa. Demam berlangsung selama 2-7 hari dan dapat mencapai hingga 41°C. Demam yang terjadi lebih dari 10 hari kemungkinan besar bukan disebabkan oleh virus dengue. Gejala-gejala yang menyertai demam klasik antara lain (WHO, 2011; Soedarto, 2012) :

- sakit kepala
- nyeri di belakang bola mata (*retro-orbital*)
- nyeri seluruh badan (*artralgia* dan *mialgia*)
- mual dan muntah , terkadang disertai diare
- ruam kulit
- rasa lemah pada badan
- anoreksia
- indera pengecap berubah
- perdarahan ringan (petekia, perdarahan gusi, epistaksis, menoragi, hematuri)
- leukopeni

Selain itu juga dapat terjadi :

- kongjungtiva merah (*injected conjunctiva*)
- radang faring
- limfadenopati

c. Demam Berdarah Dengue (DBD)

Demam berdarah Dengue (DBD) merupakan salah satu bentuk infeksi Dengue yang disebabkan oleh infeksi sekunder oleh serotipe yang berbeda dari virus Dengue. Manifestasi klinis dari DBD menyerupai demam Dengue (DD) pada fase awal febris, seperti adanya demam tinggi yang terjadi secara mendadak, sakit



kepala, nyeri di belakang bola mata, rasa sakit pada otot dan tulang, badan lemah, muntah, sakit tenggorokan serta terdapat ruam makulopapiler (Soedarto, 2012).

Pada fase febris penderita biasanya mengalami demam tinggi yang mendadak dan bertahan antara 2-7 hari, demam tinggi juga disertai dengan nyeri otot, nyeri perut, mual dan muntah. Pada fase ini juga dapat terjadi berbagai derajat pendarahan dan dehidrasi berat. Setelah fase febris, terjadi penurunan trombosit sampai titik terendah dan kenaikan permeabilitas vaskuler serta kebocoran plasma terjadi pada penderita DBD yang berlangsung hingga 48 jam. Pada fase konvalesen terjadi gagal fungsi hati dan ensefalopati yang menyebabkan syok sekunder yang berkepanjangan (Rizal, 2011).

Pada penderita demam berdarah umumnya memiliki uji torniquet (Rumpel Leede) yang positif, terjadi perdarahan di bawah kulit, dan perdarahan pada bekas suntikan intravena. Perdarahan kecil atau petekia terjadi pada awal demam dan ditemukan pada bagian-bagian tubuh seperti wajah, ketiak, tangan dan kaki serta di daerah palatum lunak. Tanda-tanda kebocoran plasma terjadi setelah demam bersama dengan munculnya gejala perdarahan, seperti perdarahan gastrointestinal, hematuria dan perdarahan jika terjadi trauma. Tahapan kritis penyakit terjadi pada fase akhir dari demam. Dua hingga tujuh hari setelah demam, terjadi penurunan suhu badan dengan cepat dikarenakan adanya gangguan sirkulasi. Penderita akan berkeringat, tangan dan kaki dingin, adanya perubahan nadi dan tekanan darah. Umumnya sebagian besar penderita akan sembuh setelah terapi cairan dan elektrolit (Soedarto, 2012)

**Tabel 2.2 Klasifikasi WHO untuk infeksi dengue dan derajat keparahan DBD (WHO,2011)**

DD/DBD	Derajat	Tanda dan Gejala	Pemeriksaan Laboratorium
DD		Demam yang disertai 2 gejala : <ul style="list-style-type: none"> <li>• sakit kepala</li> <li>• nyeri pada <i>retro-orbital</i></li> <li>• <i>myalgia</i> (nyeri sendi)</li> <li>• <i>arthralgia</i> (nyeri tulang)</li> <li>• ruam kulit</li> <li>• perdarahan</li> <li>• tidak ada kebocoran plasma</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Leucopenia (wbc &lt;5000 sel/mm<sup>3</sup>)</li> <li>• Trombositopeni (jumlah trombosit &lt;150.000 sel/mm<sup>3</sup>)</li> <li>• Peningkatan hematocrit (5-10%)</li> <li>• Tidak terjadi penurunan jumlah plasma</li> </ul>
DBD	I	Demam disertai gejala non spesifik, manifestasi perdarahan dengan tes tourniquet positif	Trombositopeni <100.000 sel/mm <sup>3</sup> , HCT meningkat ≥20%
DBD	II	Gejala seperti derajat I, disertai dengan perdarahan spontan dalam bentuk perdarahan kulit.	Trombositopeni <100.000 sel/mm <sup>3</sup> , HCT meningkat ≥20%
DBD*	III	Gejala seperti derajat I dan II, terjadi kegagalan sirkulasi ditandai dengan nadi yang cepat dan terjadi penyempitan tekanan nadi (<20 mm/Hg), hipotensi dan nampak gelisah.	Trombositopeni <100.000 sel/mm <sup>3</sup> , HCT meningkat ≥20%
DBD*	IV	Gejala seperti derajat III, syok berat, nadi dan tekanan darah tidak terukur	Trombositopeni <100.000 sel/mm <sup>3</sup> , HCT meningkat ≥20%

\*DBD derajat III dan IV adalah DSS

d. *Dengue shock syndrome* (DSS)

*Dengue shock syndrome* (DSS) adalah kumpulan gejala demam berdarah dengue yang disertai perembesan cairan di luar pembuluh darah, perdarahan parah dan syok yang menyebabkan tekanan darah menurun drastis setelah 2-7 hari fase demam. Kegagalan sirkulasi akan menyebabkan penderita mengalami *letargi*, gelisah dan akhirnya mengalami syok. DSS juga ditandai dengan denyut nadi yang

tidak stabil dan penyempitan pembuluh darah hingga  $<20$  mmHg serta terjadi *sianosis circumoral*. Kematian penderita dapat terjadi 8-24 jam sesudah munculnya gejala kegagalan sistem sirkulasi. Disebabkan karena syok yang semakin parah, merusakkan multiorgan dan juga karena terjadinya koagulasi intravascular diseminata ( Soedarto,2012; Hasan *et al.*, 2016)

e. *Expanded dengue syndrome* (sindrom dengue yang meluas)

Manifestasi klinis yang tidak biasa juga dapat terjadi pada penderita infeksi dengue yang melibatkan keparahan pada beberapa organ seperti liver, ginjal, otak atau jantung yang tidak mengalami kebocoran plasma. Manifestasi klinis yang tidak biasa ini dapat berkaitan dengan adanya koinfeksi, komordibitas atau komplikasi syok yang berkelanjutan. Sebagian besar penderita DBD yang mengalami manifestasi klinis yang tidak biasa ini disebabkan karena syok dengan kegagalan organ, penderita dengan komordibitas atau koinfeksi (WHO, 2011)

D. Pemeriksaan Laboratorium penderita infeksi Dengue

a. Demam Dengue

Pemeriksaan laboratorium pada penderita DD, ditunjukkan dengan adanya (WHO,2011) :

- Total WBC yang normal selama fase akut, leukopenia terjadi ditandai dengan menurunnya jumlah neutrofil selama fase demam
- Jumlah trombosit normal atau terjadi trombositopeni ringan di mana jumlah trombosit antara 100.000-150.000 sel/mm<sup>3</sup>
- Hematokrit ringan meningkat (~10%)

- Pemeriksaan biokimia pada serum normal tetapi ada kemungkinan enzim liver dan AST meningkat

b. Demam Berdarah Dengue

Pemeriksaan laboratorium pada penderita DBD dapat ditunjukkan dengan adanya :

- Trombositopeni, penurunan jumlah trombosit selalu ditemukan pada penderita DBD. Jumlah trombosit kurang dari 100.000 terjadi pada hari ke-3 sampai ke-8 pada saat suhu tubuh turun atau sebelum terjadi syok
- Hemokonsentrasi, pada saat suhu tubuh turun atau sebelum terjadi syok, juga selalu ditemukan peningkatan hemotokrit pada penderita DBD
- Leukopeni atau leukositosis
- Limfositosis relatif dengan limfosit atipik
- Hipoproteinemia
- Fibrinogen menurun
- Prototombin menurun
- Faktor VIII dan faktor XII menurun
- Antitrombin menurun
- PTT dan PT memanjang
- Asidosis metabolik dan BUN meningkat pada syok berat
- Efusi pleura sebelah kanan

c. *Dengue Shock Syndrome*

Pemeriksaan laboratorium pada penderita DBD dapat ditunjukkan dengan adanya (WHO, 2011) :

- Trombositopeni (100.000 sel/mm<sup>3</sup> atau kurang)
- Haemokonsentrasi
- Peningkatan hematokrit

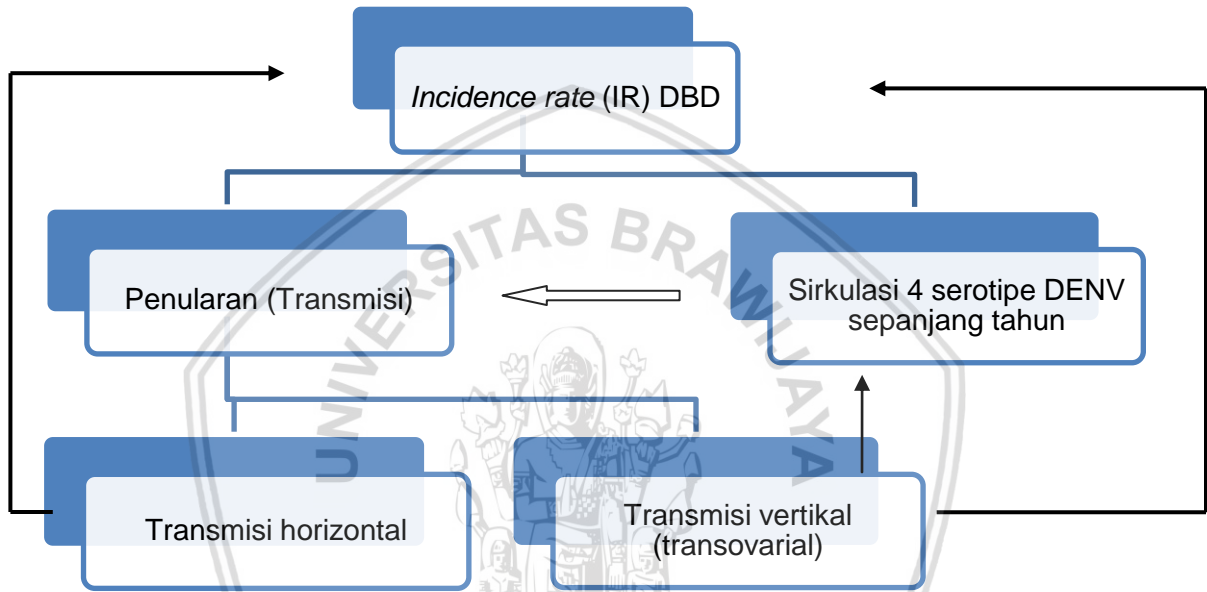




## BAB III

## KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

## 3.1. Kerangka Konsep



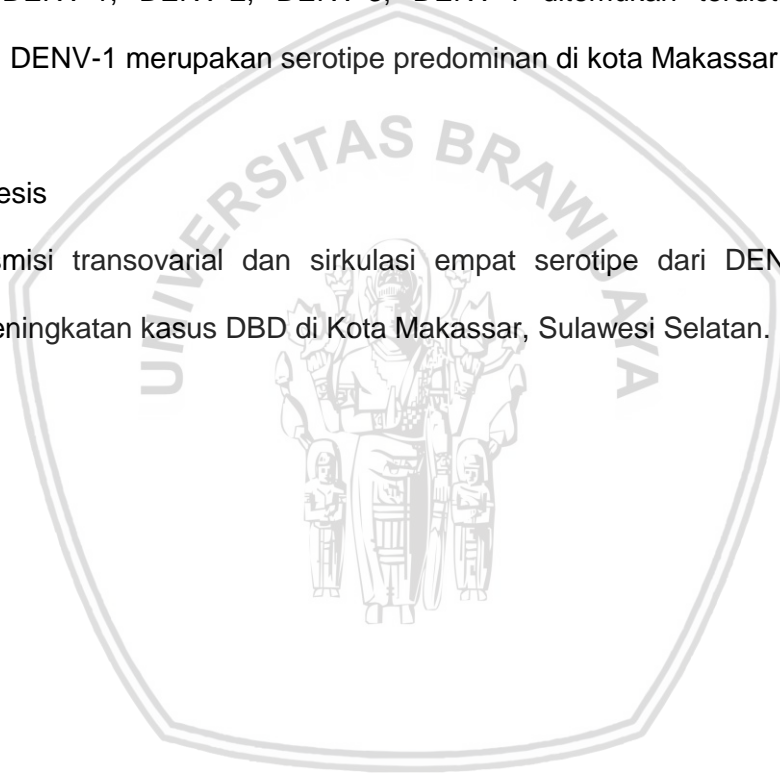
Meningkatnya kasus infeksi Dengue terutama demam berdarah Dengue (DBD) di beberapa wilayah di Indonesia, khususnya di kota-kota besar, disebabkan oleh beberapa faktor. Salah satu di antaranya adalah faktor penularan atau transmisi melalui vektor yang merupakan mekanisme virus Dengue agar mampu mempertahankan keberadaannya di alam. Dua mekanisme transmisi virus Dengue adalah melalui transmisi horizontal di mana nyamuk yang telah terinfeksi secara viremik menularkan virus Dengue kepada manusia sehat yang lain dan transmisi vertikal atau juga dikenal dengan transmisi transovarial, yaitu penularan virus Dengue dari nyamuk betina dewasa yang terinfeksi ke ovum (telur), virus Dengue kemudian melakukan perbanyakan dengan menggunakan larva sampai pupa

sebagai medium hidup untuk pertumbuhannya. Nyamuk yang berasal dari larva-larva yang terinfeksi ini telah membawa virus Dengue dan dapat menginfeksi kepada manusia sehat tanpa perlu menggigit dan mengisap darah manusia yang telah terinfeksi.

Faktor lain yang juga menyebabkan peningkatan kasus DBD adalah sirkulasi keempat serotipe virus Dengue yang terjadi sepanjang tahun. Keempat serotipe tersebut, DENV-1, DENV-2, DENV-3, DENV-4 ditemukan terdistribusi di kota Makassar. DENV-1 merupakan serotipe predominan di kota Makassar.

### 3.2 Hipotesis

Transmisi transovarial dan sirkulasi empat serotipe dari DENV berkorelasi dengan peningkatan kasus DBD di Kota Makassar, Sulawesi Selatan.



## BAB IV

### METODE PENELITIAN

#### 4.1. Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian observasional menggunakan studi ekologi melalui pendekatan *crosssectional*, dengan variabel penelitian diamati pada waktu yang sama.

#### 4.2. Populasi Penelitian, Sampel Penelitian, Lokasi dan Teknik Sampling

##### 4.2.1 Populasi Penelitian

Populasi target penelitian ini adalah telur nyamuk *Ae. aegypti* yang diperoleh melalui ovitrap. Sebagai unit sampel adalah nyamuk yang ditetaskan dari telur yang diperoleh pada ovitrap yang diletakkan di rumah-rumah yang terpilih, sedangkan unit analisisnya adalah kelurahan.

##### 4.2.2 Perkiraan Besar Sampel

Perkiraan besar sampel yang akan digunakan pada penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus perkiraan besar sampel untuk koefisien korelasi (Hulley *et al*, 2013)

$$n = \left[ \frac{(Z\alpha + Z\beta)}{0,5 \text{ Ln } (1 + r / 1 - r)} \right]^2 + 3$$

Keterangan :

n = Besaran sampel

Z α = Kesalahan tipe I ditetapkan α sebesar 0.05 dengan hipotesis dua arah, sehingga nilai Zα = 1,96

$Z_{\beta}$  = Kesalahan tipe II ditetapkan  $\beta$  sebesar 0,2 dengan hipotesis dua arah, sehingga nilai  $Z_{\beta} = 0,842$

$r$  = Korelasi berdasarkan yang dikendaki peneliti, sehingga nilai  $r = 0,5$

$\ln$  = Natural Logaritma

Sehinga didapatkan besaran sampel minimal :

$$n = \left[ \frac{(1,96 + 0,842)}{0,5 \ln(1 + 0,5 / 1 - 0,5)} \right]^2 + 3$$

$$= 29 \sim 30$$

Berdasarkan besaran sampel minimal yang diperoleh, jumlah kelurahan yang akan dijadikan lokasi peletakan ovitrap sebanyak 30 kelurahan.

#### 4.2.3 Lokasi Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di 30 kelurahan di kota Makassar dengan menempatkan ovitrap di rumah-rumah penduduk yang pernah menderita penyakit DBD antara Januari-Oktober 2017 berdasarkan data Dinas Kesehatan Kota Makassar, dan rumah di sekitar rumah penderita.

#### 4.2.4 Teknik Sampling

Teknik sampling penelitian ini dilakukan secara *multi stage sampling*, dengan tahapan sebagai berikut :

1. Pemilihan kelurahan dilakukan secara purposive berdasarkan data jumlah penderita DBD terbanyak selama bulan Januari – Oktober 2017.
2. Pemilihan RW dilakukan secara purposive berdasarkan data jumlah penderita DBD terbanyak selama bulan Januari – Oktober 2017.

3. Rumah yang dijadikan tempat peletakan ovitrap adalah rumah penderita atau yang pernah menderita DBD dan rumah di sekitarnya dengan jarak  $\pm$  100-200 meter.

#### 4.3. Waktu dan Tempat Penelitian

- a. Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2017 – Januari 2018, di 30 kelurahan di kota Makassar
- b. *Rearing* telur, pemeliharaan dan identifikasi nyamuk *Aedes aegypti* dilakukan di Laboratorium Entomologi BTKL PP kelas I Makassar
- c. Identifikasi virus Dengue dengan menggunakan RT-PCR dilakukan di Laboratorium Virologi BTKL PP Makassar

#### 4.4. Variabel Penelitian

- a. Variabel independen (bebas), adalah variabel risiko yang mempengaruhi variabel dependen, yaitu :
  - Transmisi transovarial
  - Serotipe virus dengue (DENV)
  - Nyamuk *Aedes aegypti*
- b. Variabel terikat (dependen), adalah variabel yang dipengaruhi oleh variabel independen, yaitu :
  - *Minimum infection rate (MIR)*
  - *Incidence rate (IR)*



#### 4.5. Definisi Operasional

1. Transmisi transovarial adalah transmisi atau penularan virus dengue dari nyamuk betina *Ae. aegypti* yang terinfeksi ke telur yang akan menghasilkan larva yang infeksius dengan menentukan nilai *minimum infection rate* (MIR)
2. *Minimum infection rate* (MIR) adalah frekuensi nyamuk yang terinfeksi atau membawa virus dengue per 1000 spesimen yang diuji dengan nilai ratio sebagai skala ukur. Didapatkan dengan menghitung jumlah pool positif dibagi jumlah nyamuk yang diuji dikali 1000 (Da Cruz *et al.*, 2015).
3. *Incidence rate* (IR) adalah frekuensi penyakit atau suatu kasus baru yang berjangkit dalam masyarakat di suatu tempat atau wilayah atau negara pada waktu tertentu dibandingkan dengan jumlah penduduk yang berpotensi terkena penyakit tersebut dengan nilai ratio sebagai skala ukur (Rhotman *et al.*, 2008).
4. Serotipe adalah variasi antigen yang dimiliki oleh virus dengue, virus RNA dari kelompok Arbovirus penyebab infeksi dengue yang terdiri dari 4 jenis variasi antigen yaitu DENV-1, DENV-2, DENV-3 dan DENV-4 dengan nilai persentase sebagai skala ukur. Penentuan serotipe virus dengue dilakukan dengan pengujian PCR pada amplicon yang positif secara *multiplex* menggunakan primer D1 dan primer TS (1,2,3 dan 4)
5. Nyamuk *Ae. aegypti* merupakan vektor pembawa virus dengue yang berasal dari telur yang diperoleh dari pemasangan ovitrap. Nyamuk *Ae. aegypti* dewasa adalah nyamuk yang berkembang dari pupa. Nyamuk dewasa yang digunakan adalah nyamuk yang berumur 7 hari (Depkes RI, 2007; Wanti, 2016)

#### 4.6. Prosedur Penelitian

##### 4.6.1 Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan antara lain, ovitrap, wadah untuk rearing, kandang pemeliharaan, mikroskop stereo, pinset serangga, cawan petri, punch, jarum pin, paper cup, kain kasa, karet gelang, jarum serangga, kertas gambar, mikropipet, tip, vortex, *homogeniser* steril, *microcentrifuge*, *microve*, peralatan gelas, penggerus, ice bath, *collection tube*, parafilm, *microtube*, aspirator, *freezer* -20°C, *freezer* -80°C, mesin elektroforesis, mesin QIA-Xpert Qiagen, mesin Rotor Gene PCR Qiagen, mesin elektroforesis dan mesin *gel doc*.

Bahan yang digunakan antara lain makanan larva, kloroform, etanol absolut, etanol 70%, trizol, glycogen, *phosphate buffer saline* (PBS), proteinase K, RNase *free water*, SuperScript™ III Reverse Transcriptase kit Invitrogen, gel agarose, TBE Buffer, ladder DNA 100bp, blue juice™ Loading Buffer, SYBR safe DNA gel stain

##### 4.6.2 Pemasangan ovitrap dan koleksi telur nyamuk dari ovitrap

Sampling telur nyamuk *Ae. aegypti* dilakukan dengan menggunakan ovitrap, yaitu ember berwarna hitam yang memiliki tinggi  $\pm 12$  cm dengan diameter  $\pm 11$  cm. Ovitrap dicat warna hitam, kemudian dibagian dalam ovitrap ditempelkan kertas saring (ovistrip) (Budyanto, 2010). Ovitrap diisi dengan atraktan air rendaman jerami yang dibuat dengan cara merendam 125 gram jerami dalam 15 liter air di plastik sampah yang tertutup rapat selama 7 hari (Polson *et al.*, 2002)

Distribusi ovitrap dilakukan di rumah-rumah penduduk di 30 kelurahan di kota Makassar. Masing-masing 2 buah ovitrap diletakkan di dalam rumah, di tempat yang gelap dan diperkirakan merupakan tempat yang berpotensi menjadi tempat bersarang nyamuk *Ae. aegypti* di luar rumah. Ovistrip dan air atraktan dicek setiap 3

hari. Air atraktan yang berkurang atau habis ditambahkan dengan air aktraktan yang baru. Sedangkan ovistrip yang positif terdapat telur nyamuk, diambil dan diganti dengan ovistrip yang baru. Pemeriksaan ovistrip dan aktraktan dilakukan setiap 3 hari karena masa perkembangan telur nyamuk menjadi larva pada suhu yang optimal berkisar 1-2 hari setelah nyamuk meletakkan telurnya. Penyimpanan ovitrap di setiap rumah dilakukan selama 9-12 hari.

#### 4.6.3 Rearing/penetasan telur dan pemeliharaan nyamuk

Setelah 9-12 hari, telur-telur yang ada di *ovistrip* diambil kemudian ditetaskan di atas nampan yang telah berisi air selama 2-3 hari. Pada bagian nampan diletakkan kertas saring untuk menjaga kelembapan dari penguapan air. Telur-telur yang telah menetas akan mengapung pada bagian tepi tempat pembiakan. Larva yang baru menetas tidak diberi makan selama 24 jam, setelah 24 jam larva dipindahkan kemudian diberi makanan larva instan. Pemberian makan larva instar I dan II hanya dilakukan sekali sehari, untuk larva instar III dan IV pemberian makan diberikan 2 kali sehari setiap pagi dan sore. Larva yang dibiakkan dalam nampan setiap pagi diletakkan ditempat yang terkena sinar matahari selama kurang lebih 30 menit. Sedangkan pada malam hari diletakkan di tempat khusus di dalam laboratorium. Suhu air pada tempat pembiakan berkisar 32°-33°C

Setelah 5-7 hari, larva yang telah berubah menjadi pupa diambil dari tempat pembiakan dengan pipet dan ditempatkan dalam gelas plastik kecil, kemudian diletakkan di kandang nyamuk dan dibiarkan selama 1-2 hari hingga menjadi nyamuk dewasa. Nyamuk dewasa kemudian dipisahkan dalam kandang yang berukuran 20 x 20 x 20 cm dan dipelihara sampai berumur 7 hari dengan hanya diberi makanan berupa air gula 10% (Wanti *et al*, 2016). Telur yang telah menetas

menjadi larva namun tidak berkembang menjadi nyamuk, ditunggu hingga maksimal 21 hari dan dianggap mati.

Nyamuk yang telah berumur 7 hari lalu diidentifikasi untuk kemudian digunakan sebagai sampel.

#### 4.6.4 Identifikasi Nyamuk *Aedes aegypti*

Tahapan identifikasi untuk nyamuk *Ae.aegypti* adalah sebagai berikut (Rahayu & Setiawan, 2013 ) dengan menggunakan kunci determinasi:

1. Nyamuk ditempelkan pada kertas segitiga yang telah ditusuk dengan jarum pin
2. Samping kiri nyamuk direkatkan pada point (kertas tebal yang dibentuk segitiga dengan ukuran tinggi 0.75 cm dan alas 0.2 cm, Dengan cara ini mesonotum letaknya paling jauh dari jarum. Tanda-tanda pada dada nyamuk bagian punggung tampak jelas dan kaki dapat diperiksa dari atas.
3. Ujung runcing point dibengkokkan ke bawah dengan pinset/kuku ibu jari. Lambung dada kanan direkatkan pada ujung point yang membengkok, letak nyamuk dengan punggung berada di atas.
4. Apabila nyamuk sayap membujur sejajar abdomen, sayap disentuh dengan jarum hingga posisi sayap seperti posisi terbang.
5. Nyamuk siap diidentifikasi dengan menggunakan mikroskop *stereo* berdasarkan kunci identifikasi nyamuk *Aedes* (O'Connor dan Soepanto, 2013)
6. Identifikasi nyamuk dilakukan oleh peneliti dan dikonfirmasi oleh analis laboratorium entomologi.

#### 4.6.5 Preparasi nyamuk

Nyamuk yang telah diidentifikasi, dilepaskan sayap dan kakinya. Dikumpulkan 15-25 ekor nyamuk per pool sesuai dengan lokasinya, diberi RNA later dan disimpan pada suhu  $-80^{\circ}\text{C}$  sebelum dilakukan ekstraksi virus RNA.

#### 4.6.6 Preparasi dan Ekstraksi Virus RNA

Pada saat akan dilakukan ekstraksi nyamuk didefroster, kemudian nyamuk digerus dalam 500  $\mu\text{l}$  *phosphate buffer saline* (PBS) pH 7.0 dengan menggunakan lumpang sampai halus kemudian ditambahkan 500  $\mu\text{l}$  PBS kembali sebelum dipindahkan ke microtube steril. Sampel kemudian ditambahkan dengan proteinase K sebanyak 25  $\mu\text{l}$  untuk menghilangkan protein-protein yang tidak diperlukan, divortex dan disentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$  selama 5 menit. Supernatan kemudian diambil dan disimpan di  $-20^{\circ}\text{C}$  sebelum dilanjutkan ke tahap ekstraksi. Pada tahapan ekstraksi, 250  $\mu\text{l}$  supernatant ditambahkan dengan Trizol solution sebanyak 750  $\mu\text{l}$ , divortex kemudian diinkubasi pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$  selama 2 menit. Setelah 2 menit ditambahkan *cold* chloroform sebanyak 200  $\mu\text{l}$ , vortex kemudian diinkubasi kembali selama 2 menit pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$ . Setelah diinkubasi, kemudian disentrifugasi pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$  selama 5 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Setelah sentrifugasi terbentuk 2 lapisan, lapisan atas yang berwarna bening dan lapisan bawah yang berwarna merah muda. Lapisan atas (supernatan) kemudian dipindahkan ke dalam tube 1,5 mL steril. Supernatan kemudian ditambahkan 0,1  $\mu\text{l}$  glikogen yang berfungsi untuk mengikat RNA dan 750  $\mu\text{L}$  *cold* etanol absolute, divortex dan diinkubasi pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit. Setelah inkubasi, kemudian disentrifugasi pada suhu  $4^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit dengan kecepatan 10.000 rpm. Setelah sentrifugasi akan terbentuk pelet di ujung tube yang



merupakan RNA hasil ekstraksi. Setelah terbentuk pelet kemudian dilakukan proses *washing* dengan menggunakan *cold* etanol 70% dengan terlebih dahulu membuang seluruh supernatan yang ada, menyisakan pelet yang terbentuk, kemudian ditambahkan *cold* etanol 70% sebanyak 500 µl, diinkubasi selama 2 menit pada suhu 4°C. Setelah inkubasi, kemudian disentrifugasi selama 5 menit pada suhu 4°C dengan kecepatan 10.000 rpm. Supernatan kemudian dibuang hingga hanya menyisakan pelet RNA. Pelet RNA yang terbentuk dan telah dikeringkan dari sisa-sisa etanol kemudian dicairkan dengan menambahkan 25 µl RNase free water. Hasil ekstraksi kemudian dilakukan uji *purity* dan penghitungan konsentrasi dengan menggunakan QIA-xpert dari Qiagen.

#### 4.6.7 Identifikasi Virus dengan RT-PCR

Untuk identifikasi virus dengan RT-PCR, hasil ekstraksi virus *dirunning* dengan mesin Rotor Gene PCR dari Qiagen menggunakan SuperScript™ III Reverse Transcriptase kit Invitrogen, menggunakan primer konvensional virus dengue (D1 dan D2) dengan metode RT-PCR dengan tahapan sebagai berikut :

1. Sintesis c-DNA, yaitu tahapan untuk mengubah RNA menjadi c-DNA dilakukan pada suhu 50° selama 45 menit.
2. *Hot start*, dengan suhu 95° pada suhu 15menit
3. Tahapan *cycling*, terdiri dari 40 siklus dengan tahapan :
  - Denaturasi (*denaturation*), pada suhu 92°C selama 30 detik
  - Pendinginan (*annealing*), pada suhu 58°C selama 1 menit
  - Perluasan (*extension*), pada suhu 72°C selama 2 menit
4. Perluasan akhir (*Final Extension*) pada suhu 72°C selama 2 menit

Primer yang digunakan dalam identifikasi virus dengan RT-PCR adalah primer dengue virus consensus (D1 dan D2) serta primer TS (*type specific*) dari keempat serotipe, yaitu (Lanciotti *et al.*, 1992):

D1 : 5'-TCAATATGCTGCTAAACGCGCGAGAAACCG -3'

D2 : 5'- TTGCACCAACAGTCAATGTCTTCAGGTTC- 3'

TS1 : 5'-CGTCTCAGTGATCCGGGGG- 3'

TS2 : 5' CGCCACAAGGGCCATGAACAG-3'

TS3 : 5'-TAACATCATCATGAGACAGAGC-3'

TS4 : 5'-CTCTGTTGTCTTAAACAAGAGA-3'

Empat primer TS digunakan apabila di dapatkan hasil positif pada proses RT-PCR, pengujian dengan PCR kemudian dilanjutkan pada amplicon yang positif.

#### 4.6.8 Elektroforesis

Untuk membuat gel agarose, cetakan disiapkan dengan jumlah well sesuai dengan kebutuhan. Agarose 2% dalam TBE *buffer* konsentrasi 1X dipanaskan dengan microve, kemudian di tambahkan 10 uL syber safe-TM dan dituang ke dalam cetakan. Setelah gel agarose memadat, dimasukkan ke dalam *chamber* elektroforesis yang berisi TBE buffer. Produk PCR (amplicon) sebanyak 7 µl di tambah dengan *Loading dye* 1 µl sebagai pemberat DNA dan dimasukkan ke dalam *well*. *Marker* dan kontrol positif juga dimasukkan ke *well*, kemudian *dirunning* dengan mengalirkan arus listrik 100 volt dan 400 Ampere (DNA akan bermigrasi dari kutub negatif ke arah kutub positif) selama 35 menit. Hasil elektroforesis kemudian dimasukkan ke dalam mesin *Gel Doc* untuk melihat pita (*band*) yang terbentuk (Tjahjasari, 2009).

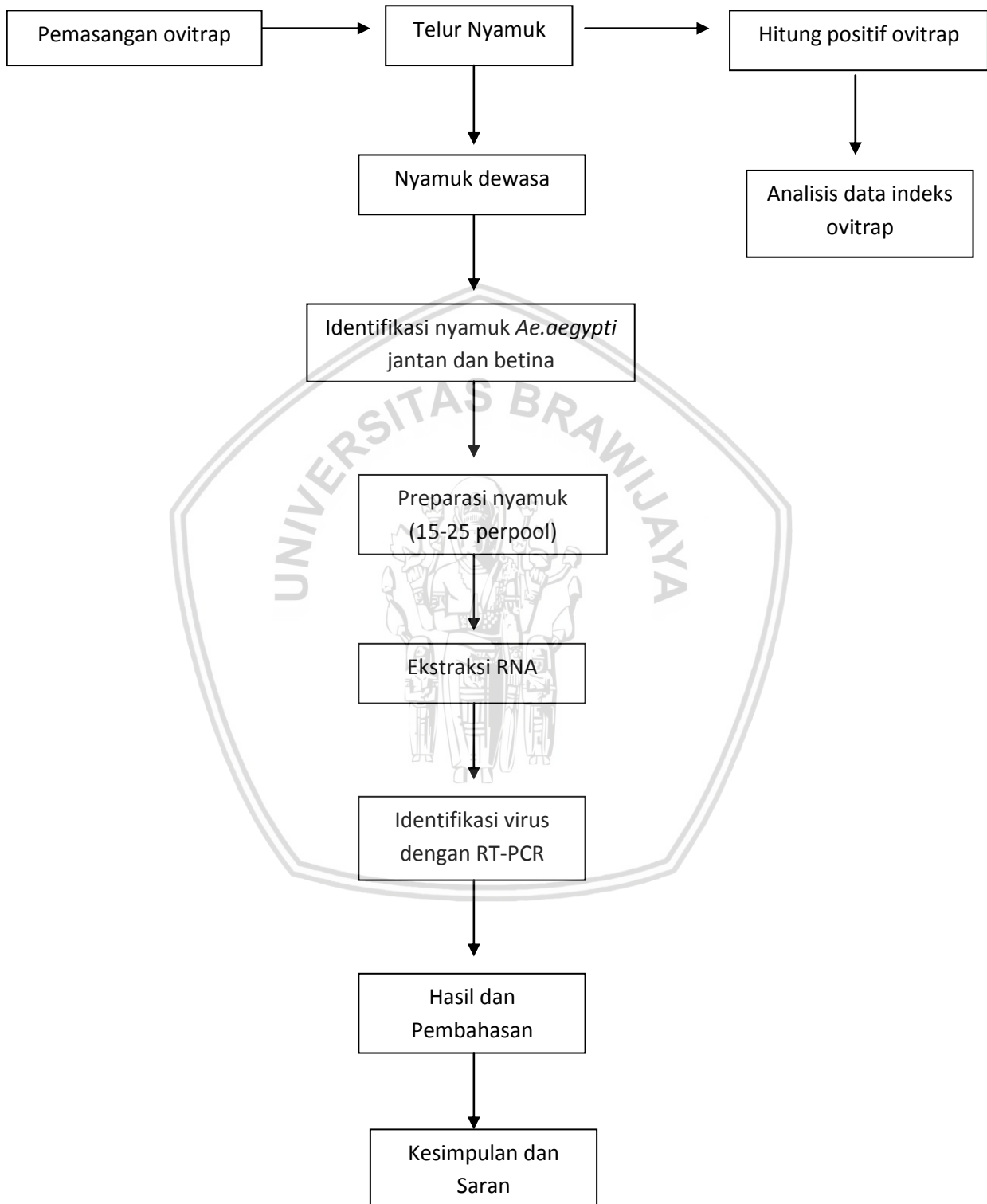
#### 4.7. Analisis Data

Analisis data Indeks Ovitrap (IO) menggunakan analisis statistik uji t untuk mengetahui signifikansi persentase rata-rata antara IO di dalam rumah dan di luar rumah. Untuk uji normalitas data akan digunakan Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov dan Saphiro Wilk.

Untuk korelasi antara nilai *minimum infection rate* dan *incidence rate*, tidak dilakukan analisis data karena hasil yang diperoleh adalah negatif. Demikian juga untuk korelasi antara persentase distribusi serotipe DENV dan *incidence rate*.



## 4.8 Alur Penelitian



## BAB V

### HASIL PENELITIAN

#### 5.1 Gambaran Umum Lokasi Penelitian

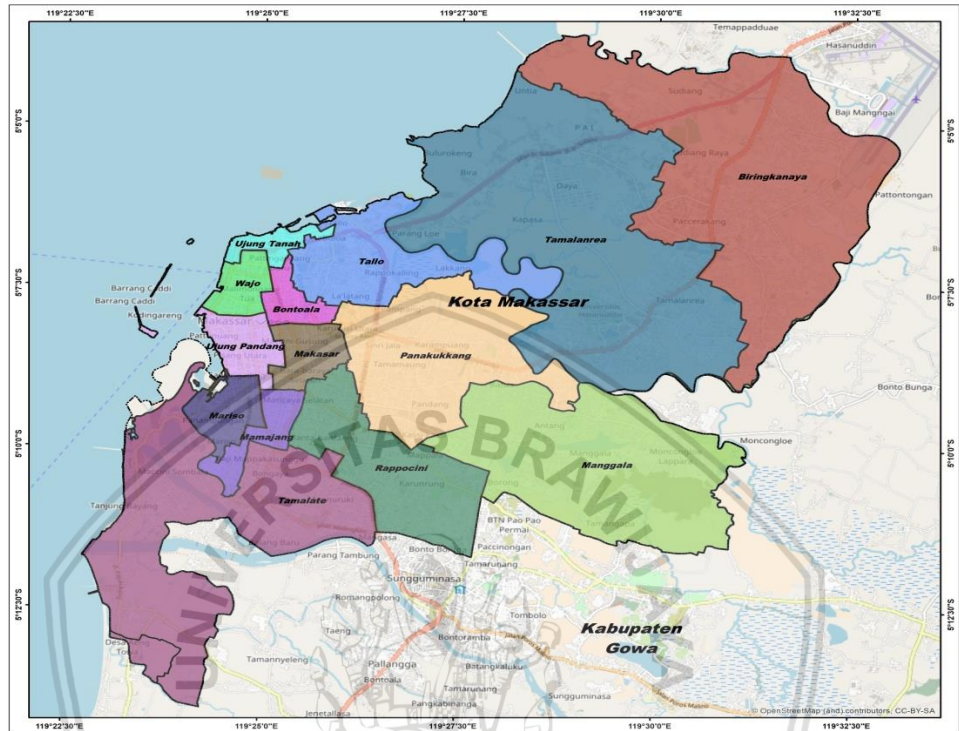
Kota Makassar, yang dari tahun 1977 sampai 1999 dikenal resmi dengan sebutan Ujung Pandang, merupakan ibukota provinsi Sulawesi Selatan yang termasuk kota metropolitan terbesar di kawasan Indonesia Timur. Luas wilayah daratan kota Makassar kurang lebih 175,77 km<sup>2</sup> ditambah luas wilayah perairan kurang lebih 100 km<sup>2</sup>. Kota Makassar terbagi atas 14 kecamatan dengan 157 kelurahan dengan jumlah penduduk berdasarkan data Badan Pusat Statistik pada tahun 2016 sebanyak 1.469.601 jiwa terdiri dari 727.314 laki-laki dan 742.287 perempuan.

Wilayah kota Makassar terletak dikoordinat antara 119° 18' 27,97" sampai 119° 32' 31,03" bujur timur dan 5° 30' 18" sampai 5° 14' 49" lintang selatan. Berada pada ketinggian bervariasi antara 1-25 meter dari permukaan laut dengan temperatur berkisar antara 27°C hingga 29°C, kelembapan antara 70% sampai 88%, dengan curah hujan mencapai 3.313 mm pada tahun 2017 berdasarkan pencatatan Stasiun Meteorologi Maritim Paotere, sehingga termasuk kota dengan curah hujan yang tinggi.

Kota Makassar merupakan daerah pantai yang datar dengan kemiringan 0-5 derajat ke arah barat, diapit oleh dua muara sungai yaitu sungai Tallo dan sungai Jenneberang. Kota Makassar berbatasan dengan kabupaten Gowa di sebelah selatan, sebelah utara berbatasan dengan kabupaten Pangkajene Kepulauan (Pangkep), sebelah timur berbatasan dengan kabupaten Maros dan sebelah barat



berbatasan dengan selat Makassar. Gambaran kota Makassar dapat dilihat pada peta di bawah ini.



**Gambar 5.1 Peta wilayah Kota Makassar**

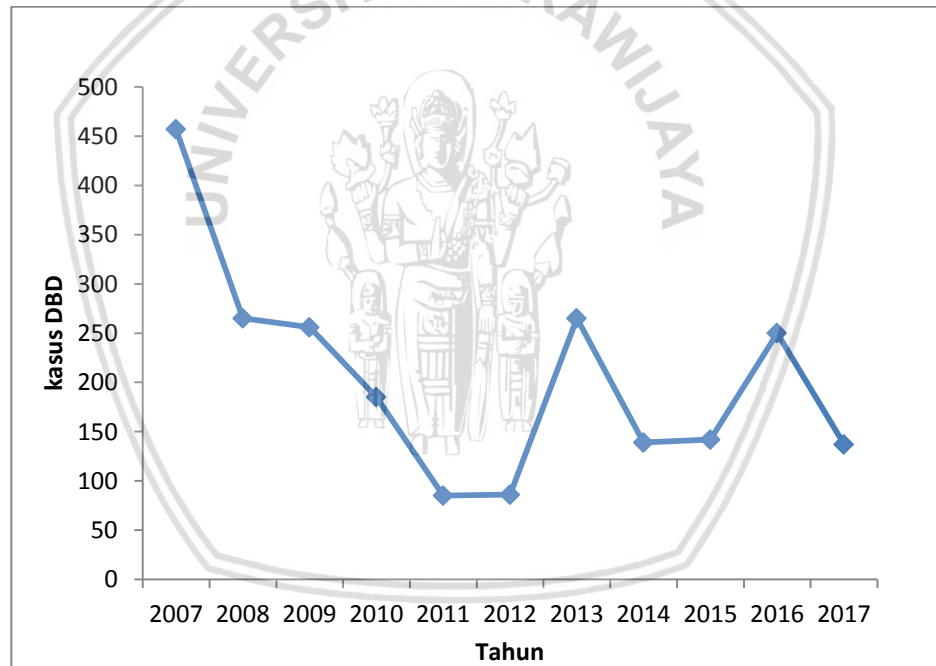
**Sumber Data : Data Administrasi Kota Makassar BIG 2017**

Keterangan

	Kec. Biringkanaya		Kec. Tamalate
	Kec. Rappocini		Kec. Manggala
	Kec. Bontolale		Kec. Ujung Pandang
	Kec. Tallo		Kec. Mariso
	Kec. Makassar		Kec. Ujung Tanah
	Kec. Tamalanrea		Kec. Panakukang
	Kec. Mamajang		Kec. Wajo

## 5.2 Jumlah Kasus Demam Berdarah dan Insiden Rate DBD di Kota Makassar

Selama kurun waktu 10 tahun terakhir, sejak tahun 2007 hingga tahun 2017 kasus Demam Berdarah di kota Makassar terjadi secara fluktuatif. Kasus DBD yang berhasil ditekan hingga 86 kasus pada tahun 2012 kembali meningkat pada tahun 2013 dengan 265 kasus dan 250 kasus pada 2016, kemudian kembali mengalami penurunan pada tahun 2017 menjadi 137 kasus, selanjutnya ditampilkan dalam grafik berikut ini :



**Gambar 5.2 Jumlah kasus DBD di kota Makassar dari tahun 2007-2017**

**Sumber : Dinas Kesehatan Kota Makassar**

Data angka kejadian DBD per 10.000 penduduk pada 30 kelurahan lokasi penelitian tahun 2017 disajikan pada tabel berikut :

**Tabel 5.1 Angka Kejadian (*incidence rate*) di 30 kelurahan di Kota Makassar tahun 2017**

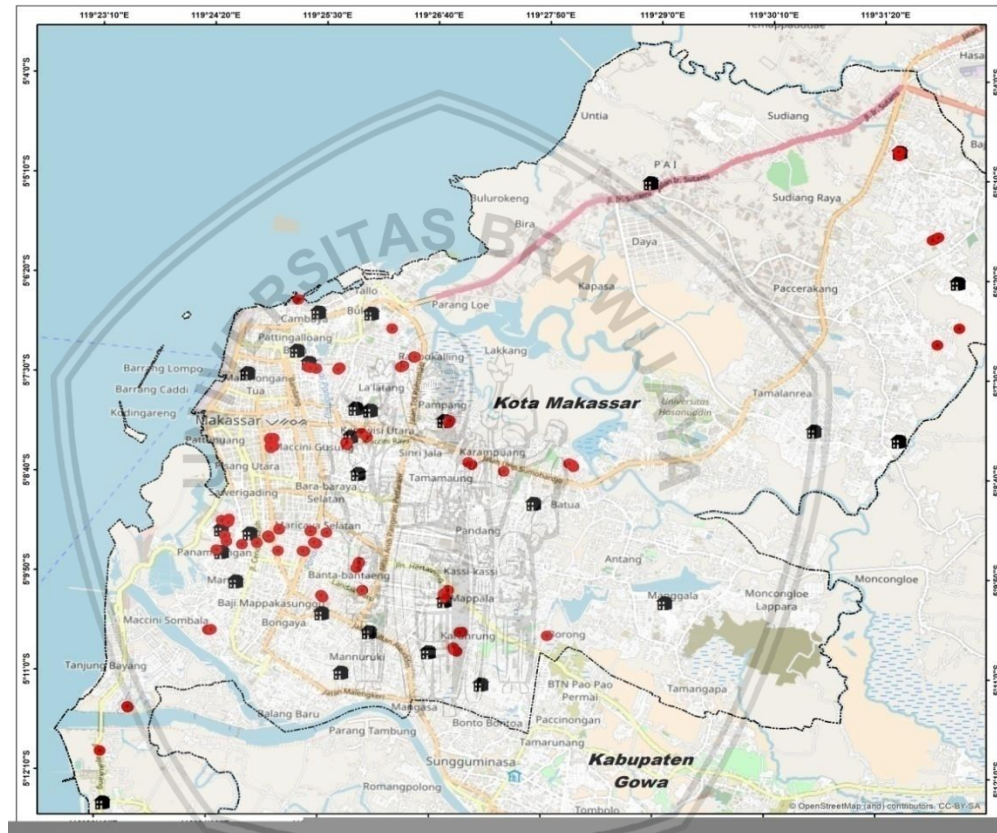
No	Lokasi (Kelurahan)	Jumlah Kasus	Jumlah Penduduk*	IR (per 10.000 penduduk)
1	Bontomakio	1	5.150	1,9
2	Karunrung	1	14.110	0,7
3	Mapala	1	9.745	1,0
4	Bantabantaeng	2	23.117	0,9
5	Maricaya Selatan	6	5.471	11
6	Mamajang Luar	2	3.653	5,5
7	Mamajang Dalam	0	3.327	0
8	Mandala	1	3.596	2,8
9	Maccini Gusung	2	8.341	2,4
10	Maccini Sawah	1	7.268	1,4
11	Mario	1	4.684	2,1
12	Panambungan	2	12.235	1,6
13	Lette	1	9.428	1,1
14	Mariso	1	8.159	1,2
15	Rappojawa	3	6.376	4,7
16	Wala-walaya	3	7.560	4,0
17	Kaluku Bodoa	2	22.678	4,0
18	B.E Beru	2	9.166	0,9
19	Lembo	2	11.625	1,7
20	Pai	4	23.263	1,7
21	Sudiang Raya	4	51.736	0,9
22	Laikang	1	2.438	4,1
23	Maccini Sombala	2	13.027	1,5
24	Tanjung Merdeka	1	11.200	0,9
25	Karampuang	3	10.787	2,8
26	Pampang	2	18.071	1,1
27	Panaikang	1	16.190	0,6
28	Pisang Utara	7	4.420	15,8
29	Lajangniru	1	6.114	1,6
30	Pabaeng-baeng	4	20.342	2,0
Total		64	332.953	11
Rata-rata		2,1	11.098	5,5

\* Sumber : Badan Pusat Statistik Makassar

Jumlah kasus DBD tertinggi terjadi di kelurahan Pisang Utara sebanyak 7 kasus, sedangkan terendah di kelurahan Mamajang Dalam dengan 0 kasus. Sedangkan angka kejadian DBD tertinggi di kelurahan Pisang Utara (15,8%) dan terendah di kelurahan Mamajang Dalam (0%).

### 5.3 Lokasi Penelitian dan Pemasangan Ovitrap

Terdapat 90 Lokasi penempatan ovitrap di 30 kelurahan lokasi penelitian. Lokasi penempatan dan jumlah ovitrap yang diletakkan dapat dilihat dari peta lokasi penelitian (gambar 2) dan tabel 5.2



**Gambar 5.3 Peta Lokasi Penempatan Ovitrap**

#### Keterangan

Bulat Merah (Lokasi Penempatan Ovitrap)

Rumah ( Sarana Kesehatan/Puskesmas)

**Tabel 5.2 Lokasi penempatan ovitrap dan hasil pemasangan ovitrap di 30 kelurahan di Kota Makassar**

No	Kode Lokasi	Jumlah Ovitrap		Keberadaan Telur				Indeks Ovitrap		% Total
				Positif		Negatif		(%)		
		DL	LR	DL	LR	DL	LR	DL	LR	
1	BM	6	6	3	3	3	3	50	50	50
2	KR	6	6	1	3	5	3	16,67	50	33,33
3	MP	6	6	1	3	5	3	16,67	50	33,33
4	BT	6	6	3	3	3	3	50	50	50
5	MRS	6	6	4	4	2	2	66,67	66,67	66,67
6	MML	6	6	4	1	1	5	66,67	16,67	41,46
7	MD	6	6	3	3	3	3	50	50	50
8	MDN	6	6	3	3	3	3	50	50	50
9	MCG	6	6	3	3	3	3	50	50	50
10	MCW	6	6	3	3	3	3	50	50	50
11	MR	6	6	3	3	3	3	50	50	50
12	PM	6	6	0	4	6	2	0	66,67	33,33
13	LT	6	6	3	1	3	5	50	16,67	33,33
14	MS	6	6	1	3	5	3	16,67	50	33,33
15	RJ	6	6	2	4	4	2	33,33	66,67	50
16	WL	6	6	1	2	5	4	16,67	33,33	25
17	KKB	6	6	1	3	5	2	16,67	50	33,33
18	BE	6	6	1	1	5	5	16,67	16,67	16,67
19	LB	6	6	3	4	3	2	50	66,67	58,53
20	PAI	7	4	4	2	2	2	66,7	50	54,54
21	SR	6	6	2	3	4	3	33,33	50	41,67
22	LG	6	6	2	3	4	3	33,33	50	41,67
23	MCS	6	6	2	3	4	3	33,33	50	41,67
24	TM	6	6	2	2	3	4	33,33	33,33	33,33
25	KRP	6	6	2	3	4	2	33,33	33,33	33,33
26	PPG	6	6	2	3	3	2	33,33	33,33	33,33
27	PNG	6	6	2	3	4	2	33,33	33,33	33,33
28	PUT	6	6	2	3	4	2	33,33	33,33	33,33
29	LJN	6	6	2	3	4	1	33,33	33,33	33,33
30	PB	6	6	2	2	4	4	33,33	33,33	33,33
Rata-rata								37,22	44,22	42,09

Ket :

DL : Dalam Rumah

LR : Luar Rumah

BM : Bontomakio

KR : Karunrung

BT : Banta-bantaeng

MP : Mapala

MS : Maricaya Selatan

MML: Mamajang Selatan

MD : Mamajang Dlm

MG : Maccini Gusung

MCS: Maccini Sombala

TM : Tanjung Merdeka

MCW : Maccini Sawah

MR : Mario

PM : Panambungan

LT : Lette

MR : Mariso

RJ : Rappojawa

WL : Wala-walaya

KKB : Kaluku Bodoa

KRP : Karampuang

PPG : Pampang

BE : Bunga Eja Beru

LB : Lembo

PAI : PAI

SR : Sudiang Raya

LG : Laikang

PUT : Pisang Utara

LN : Lajangniru

PNG: Panaikang

MND: Mandala

PB :Pabaeng-baeng



Tabel 5.2 menunjukkan distribusi ovitrap dan indeks ovitrap di 30 kelurahan di Makaasar. Hasil pengumpulan telur nyamuk menunjukkan indeks ovitrap (IO) di luar rumah sebesar 44,44% lebih tinggi dibandingkan IO di dalam rumah (37,22%). Indeks ovitrap tertinggi di dalam rumah sebesar 66,67% diperoleh di kelurahan Maricaya Selatan, Mamajang Luar dan kelurahan PAI, sedangkan IO terendah diperoleh di kelurahan Panambungan (0%). Indeks ovitrap di luar rumah tertinggi didapatkan di kelurahan Maricaya Selatan, Panambungan, Rappojawa dan Lembo sebesar 66,67% sedangkan IO terendah sebesar 16,67% diperoleh di tiga kelurahan yaitu Mamajang Luar, Bunga Eja Beru dan Lette.

Walaupun hasil persentase indeks ovitrap di luar rumah lebih tinggi dari indeks ovitrap di dalam rumah, dari hasil analisis statistik uji t diperoleh nilai signifikan lebih besar dari 0,05 yaitu sebesar 0,076 yang menunjukkan nilai persentase IO di dalam dan di luar rumah tidak berbeda nyata.

#### **5.4 Ekstraksi RNA nyamuk *Ae. aegypti* jantan dan betina**

Sampel telur nyamuk *Aedes aegypti* yang telah ditetaskan dan dikumpulkan perpool kemudian dilakukan ekstraksi RNA. Untuk mendapatkan hasil yang sempurna pada saat proses identifikasi dengan RT-PCR, RNA yang telah diekstraksi harus memiliki konsentrasi dan kemurnian yang cukup untuk proses identifikasi. Nilai purity RNA yang dianggap memenuhi persyaratan berada di kisaran 1,9 sampai 2,1.

Rata-rata konsentrasi dan purity dari hasil ekstraksi RNA sampel nyamuk jantan dan betina ditunjukkan pada tabel 5.3

**Tabel 5.3 Konsentrasi dan kemurnian hasil ekstraksi RNA sampel nyamuk jantan dan betina**

No	Hasil Ekstraksi	Kisaran Nilai		Rata-Rata	
		Konsentrasi	Kemurnian	Konsentrasi	Kemurnian
1	Jantan	10,4-628	1,51-2,24	180,2	1,79
2	Betina	20,8-1167	1,56-2,08	314,03	1,87

Rata-rata konsentrasi hasil ekstraksi RNA pada nyamuk dewasa *Aedes aegypti* jantan 180,2 dan betina 314,03. Perbedaan konsentrasi RNA pada nyamuk jantan dan betina disebabkan perbedaan ukuran tubuh dari nyamuk jantan dan betina, di mana ukuran tubuh nyamuk betina lebih besar sehingga jumlah ekstraksi RNA yang dihasilkan lebih banyak. Dari pengujian kemurnian ekstrak RNA, pada nyamuk jantan berada pada kisaran 1,51-2,24 sedangkan pada nyamuk betina berada pada kisaran 1,56-2,08. Hasil ini menunjukkan beberapa sampel memiliki kemurnian kurang dari 1,9. Namun dengan hasil ini proses identifikasi RNA dengan RT-PCR masih dapat dilakukan.

### 5.5 Deteksi virus Dengue pada nyamuk *Ae. aegypti* jantan dan betina

Deteksi DENV pada RNA nyamuk dilakukan secara amplifikasi dengan RT-PCR menggunakan primer D1 dan D2. Amplicon hasil RT-PCR kemudian dielektroforesis dan difoto untuk melihat pita (band) DNA yang terbentuk. Hasil PCR dikatakan positif apabila terbentuk pita DNA berukuran 510 pasangan basa (bp), sebagai pembanding digunakan kontrol positif virus Dengue, dan apabila positif akan dilanjutkan ke pengujian *serotyping*.

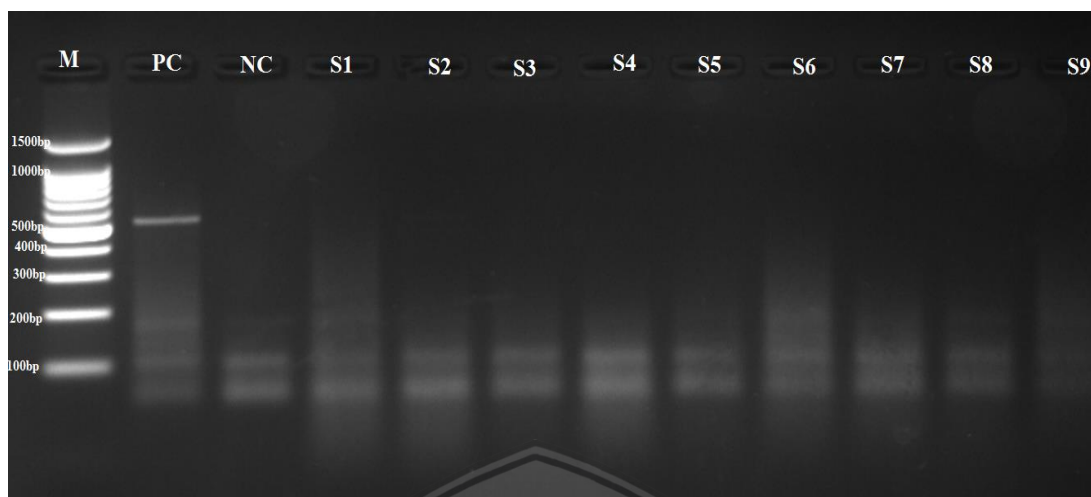
**Tabel 5.4 Hasil Deteksi Virus Dengue pada Nyamuk betina dewasa *Ae. aegypti***

Kelurahan	Jumlah ovitrap	Jumlah Nyamuk	Jumlah Pool	Jumlah pool positif virus Dengue
Bontomakio	12	47	3	0
Karunrung	12	66	3	0
Banta-bantaeng	12	45	2	0
Mapala	12	32	3	0
Maricaya Selatan	12	36	3	0
Mamajang Luar	12	25	2	0
Mamajang Dalam	12	42	3	0
Mandala	12	41	3	0
Maccini gusung	12	43	3	0
Maccini Sawah	12	45	3	0
Mario	12	65	3	0
Panambungan	12	30	2	0
Lette	12	24	2	0
Mariso	12	42	3	0
Rappojawa	12	67	3	0
Wala-walaya	12	25	2	0
Kaluku Bodoa	12	39	3	0
Bunga Eja Beru	12	10	1	0
Lembo	12	44	3	0
Pai	11	40	3	0
Sudiang Raya	12	38	2	0
Laikang	12	25	2	0
Maccini Sombala	12	39	3	0
Tanjung Merdeka	12	30	2	0
Karampuang	12	48	3	0
Pampang	12	36	3	0
Panaikang	12	30	2	0
Pisang Utara	12	38	3	0
Lajangniru	12	30	2	0
Pabaeng-baeng	12	32	2	0
Total	359	1149	78	0

**Tabel 5.5 Hasil Deteksi Virus Dengue pada Nyamuk jantan dewasa *Ae. aegypti***

Kelurahan	Jumlah ovitrap	Jumlah Nyamuk	Jumlah Pool	Jumlah pool positif Virus Dengue
Bontomakio	12	45	3	0
Karunrung	12	88	5	0
Banta-bantaeng	12	45	3	0
Mapala	12	30	2	0
Maricaya Selatan	12	38	3	0
Mamajang Luar	12	36	2	0
Mamajang Dalam	12	45	3	0
Mandala	12	47	3	0
Maccini gusung	12	45	3	0
Maccini Sawah	12	65	4	0
Mario	12	72	3	0
Panambungan	12	30	2	0
Lette	12	24	2	0
Mariso	12	30	2	0
Rappojawa	12	49	3	0
Wala-walaya	12	30	2	0
Kaluku Bodoa	12	43	3	0
Bunga Eja Beru	12	-	-	0
Lembo	12	45	3	0
Pai	11	15	1	0
Sudiang Raya	12	32	2	0
Laikang	12	24	2	0
Maccini Sombala	12	36	3	0
Tanjung Merdeka	12	30	2	0
Karampuang	12	42	3	0
Pampang	12	45	3	0
Panaikang	12	32	2	0
Pisang Utara	12	45	3	0
Lajangniru	12	30	2	0
Pabaeng-baeng	12	15	1	0
Total	359	1132	75	0

Dari 78 pool nyamuk *Ae. aegypti* betina dewasa dan 75 pool nyamuk *Ae. aegypti* jantan dewasa yang diidentifikasi tidak ada yang menunjukkan hasil positif DENV. Hasil negatif ini ditunjukkan dengan tidak terbentuknya pita DNA pada gel agarose setelah proses elektroforesis dan imaging dengan menggunakan gel doc. Hasil elektroforesis dan imaging ditunjukkan pada gambar 5.4 dan 5.3



Sampel nyamuk *Aedes aegypti* betina

**Gambar 5.4 Hasil RT-PCR DENV pada nyamuk betina dewasa 9 pool dari 3 kelurahan di Kota Makassar menggunakan kontrol positif DENV-1**



Sampel Nyamuk *Aedes aegypti* jantan

**Gambar 5.5 Hasil RT-PCR DENV pada nyamuk jantan dewasa 9 pool dari 3 kelurahan di Kota Makassar menggunakan kontrol positif DENV-1**

Gambar 5.4 dan 5.5 menunjukkan hasil RT-PCR dengan menggunakan sepasang primer D1 dan D2 (Lanciotti, 1992) masing-masing diwakili 9 pool sampel dari 3 kelurahan pada nyamuk jantan dan betina . Pada gambar 5.4 dan 5.5 terlihat marker 100bp DNA ladder pada kolom pertama, kontrol positif pada kolom kedua dan kontrol negatif pada kolom ketiga, serta 9 sampel pada kolom ke empat



hingga kolom kedua belas. Hasil kedua gambar ini menunjukkan hasil negatif pada sampel dengan tidak terbentuknya pita pada kesembilan sampel seperti yang terlihat pada kontrol positif (terbentuk pita berukuran 510 bp). Dengan hasil ini sampel amplicon hasil RT-PCR tidak diteruskan untuk pengujian *serotyping*.



## BAB VI

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Pengumpulan sampel di lokasi penelitian

Pengumpulan sampel di lokasi penelitian dilakukan dengan menggunakan ovitrap. Ovitrap diletakkan selama 9 hari, setiap 3 hari ovitrap dicek untuk melihat keberadaan telur di kertas saring. Kertas saring yang terdapat telur kemudian diganti dengan yang baru. Ovitrap yang tidak terdapat telur sama sekali dibiarkan hingga 9 sampai 12 hari.

Dari 90 lokasi penempatan ovitrap, 78 di antaranya atau sekitar 86,67% menjadi tempat bertelurnya nyamuk *Aedes aegypti* betina. Hal ini menandakan ovitrap dengan aktraktan Air rendaman jerami masih efektif digunakan sebagai perangkap nyamuk *Aedes aegypti*. Air rendaman jerami mengandung zat ammonia dan CO<sub>2</sub> yang berasal dari proses metabolisme yang mampu menarik syaraf penciuman nyamuk *Aedes* untuk bertelur di tempat tersebut (Dwinata *et al*,2015)

*Ovitrap Index* (OI) di lokasi penelitian berada di kisaran 16,67% sampai 66,67 %, dengan rata-rata sebesar 42,9%, OI di luar rumah lebih besar yaitu 44,22% dibandingkan OI dalam rumah sebesar 37,44%. Hal ini menunjukkan nyamuk *Ae. aegypti* di kota Makassar memiliki kecenderungan untuk bertelur di luar rumah. Hal ini mungkin terjadi karena sebagian masyarakat memiliki kebiasaan untuk menyimpan wadah air di luar rumah yang dijadikan untuk penampungan air hujan. Adanya kebiasaan pemilik rumah yang menggunakan semprotan nyamuk di dalam rumah menjadi faktor ditemukan telur-telur di ovitrap yang diletakkan di dalam rumah.

Hasil penelitian ini sama dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Sucipto, *et al* (2009) di 10 kelurahan di Pontianak, di mana hasil OI di luar rumah (41,1%) lebih besar dibandingkan OI di dalam rumah (20,8%). Nyamuk *Aedes aegypti* memiliki kesenangan dan kecenderungan untuk bertelur di luar rumah dibandingkan di dalam rumah.

Pengambilan sampel penelitian ini dilakukan pada bulan November 2017 - Januari 2018, yaitu pada bulan-bulan penghujan umur nyamuk lebih panjang, sehingga penularan virus dapat terjadi lebih tinggi (Soedarto, 2012). Walaupun curah hujan yang besar dapat menghanyutkan nyamuk pembawa DENV, sisa-sisa air hujan yang tergenang menjadi tempat perindukan yang potensial untuk larva dan nyamuk dewasa (Gu *et al.*, 2016; Atique *et al.*, 2016). Hal inilah yang menyebabkan walaupun pengambilan sampel telur nyamuk dilakukan di musim penghujan, 78 dari 90 ovitrap yang diletakkan di rumah-rumah penduduk tetap ditemukan telur-telur nyamuk *Ae. aegypti* yang menandakan bahwa lokasi tersebut menjadi tempat perindukan bagi nyamuk *Ae. aegypti*.

## 6.2 Angka Kejadian (*Incidence Rate*) di Kota Makassar

Sepanjang tahun 2007 hingga 2017 kasus DBD di kota Makassar terjadi secara fluktuatif. Adanya interaksi berbagai faktor mempengaruhi transmisi virus Dengue, baik itu faktor lingkungan fisik, biologi dan sosial. Salah satu faktor lingkungan yang berperan penting dalam transmisi ini adalah faktor iklim. Iklim berperan penting dalam memicu berkembangnya populasi vektor, propagasi virus dan transmisi virus ke manusia (Tjahjasari, 2009; Atique *et al.*, 2016)

Peningkatan temperatur lingkungan dapat mempersingkat siklus gonotropik dan mengurangi periode Ekstrinsik. Pada suhu yang lebih tinggi lagi, nyamuk

dewasa yang terinfeksi membutuhkan lebih banyak asupan darah untuk melengkapi siklus gonotropik yang terjadi di sepanjang siklus hidupnya yang memungkinkan resiko peningkatan transmisi Dengue (Cheong *et al.*,2013; Atique *et al.*,2016). Walaupun rata-rata temperatur di kota Makassar tidak mengalami peningkatan yang signifikan setiap bulannya, di mana rata-rata temperatur berkisar pada range 27°C hingga 32°C, transmisi virus Dengue tetap dapat terjadi sepanjang tahun. Hal ini sesuai dengan penelitian laboratorium yang dilakukan oleh Liu *et al* (2017) yang membandingkan titer virus Dengue 2 pada *Ae. albopictus* di temperatur 23°C, 28°C dan 32°C menunjukkan bahwa jumlah titer virus tertinggi didapatkan pada temperatur 28°C.

Di musim penghujan pada saat suhu menjadi lebih rendah, nyamuk *Ae. aegypti* tetap dapat bertahan hidup hingga pada suhu 10°C, tetapi metabolismenya menurun atau bahkan berhenti apabila suhu udara di bawah 4,5°C yang pada akhirnya mempengaruhi perkembangan virus dalam tubuh nyamuk, tingkat menggigit, waktu istirahat dan perilaku kawin, penyebaran dan durasi siklus gonotropik (Bangkele & Safriyanti, 2016)

Faktor kelembapan juga menjadi faktor yang dapat mempengaruhi tingkat penularan virus Dengue. Kelembapan relatif mempengaruhi kelangsungan hidup, masa perkawinan, penyebaran, perilaku makan dan penempatan telur nyamuk pada habitatnya (oviposisi) serta masa replikasi virus pada tubuh nyamuk (Promprou *et al.*,2005). Kelembapan optimal yang dibutuhkan nyamuk untuk dapat berkembang biak adalah 60-80% karena nyamuk sensitif terhadap kondisi kering. Ketika kelembapan turun hingga 60%, terjadi penguapan air pada tubuh nyamuk sehingga dapat memperpendek umur nyamuk (Bangkele & Syafriyanti, 2016). Walaupun pada tahun 2017 kelembapan rata-rata kota Makassar berada di kisaran

71%-88%, angka kejadian DBD di 30 lokasi penelitian hanya berkisar 0-15,8 per 10.000 penduduk. Hal ini disebabkan kelembapan tidak berpengaruh langsung pada angka kejadian DBD tetapi berpengaruh pada usia nyamuk (Dini et al, 2010). Hal inilah yang menyebabkan walaupun angka kejadian tidak tinggi, tapi masih banyak ditemukan vektor virus dengue pada lokasi penelitian.

### 6.3 Deteksi DENV pada nyamuk *Ae. aegypti* dewasa

Pada penelitian ini tidak ditemukan hasil positif virus Dengue pada nyamuk *Ae. aegypti* betina dewasa, dengan nilai MIR 0 menunjukkan tidak adanya transmisi virus dengue yang terjadi pada musim hujan (November 2017- Januari 2018) di 30 kelurahan yang dijadikan lokasi sampling. Hasil negatif ditunjukkan dengan tidak terbentuknya pita (band) setelah proses elektroforesis pada 78 pool sampel nyamuk betina dan 75 pool sampel nyamuk jantan.

Hasil ini sejalan dengan beberapa penelitian mengenai transmisi transovarial yang juga mendapatkan hasil rendah bahkan negatif ketika dilakukan di musim penghujan. Penelitian yang dilakukan Edillo *et al* (2015) di kota Cebu, Philipina pada 86 pool sampel nyamuk *Ae. aegypti* di musim penghujan dan 85 pool sampel nyamuk *Ae. aegypti* di musim kemarau mendapatkan nilai MIR DENV nyamuk terinfeksi meningkat dari nilai 0 pada musim penghujan menjadi 48,22 per 1000 nyamuk di pertengahan musim kemarau. Hasil yang serupa juga diperoleh dari penelitian yang dilakukan di India Selatan pada 3888 specimen *Ae. aegypti* betina yang dibagi dalam 204 pool yang diperoleh pada musim penghujan (bulan November, Januari dan Februari) dan tidak didapatkan hasil positif DENV (Thenmozhi *et al.*,2000). Hasil negatif DENV pada nyamuk betina *Aedes aegypti* juga ditemukan pada penelitian yang dilakukan di Acapulco, Mexico, dari 123 pool



sampel nyamuk yang berasal dari larva yang dilakukan pada bulan Agustus 2011 (Martinez *et al*, 2014)

Beberapa penelitian transmisi transovarial yang mendapatkan hasil yang berbeda dari ini penelitian ini antara lain penelitian yang dilakukan oleh Mulyatno, *et al* (2012) di Surabaya sepanjang tahun 2008-2011 pada musim hujan dan kemarau mendapatkan nilai MIR pada nyamuk dewasa betina hasil *rearing* pada hujan 11,4 dan 22,1 sedangkan pada musim kemarau 8,0. Perbedaan hasil ini dapat terjadi disebabkan adanya perbedaan lokasi penelitian. Kota Surabaya merupakan daerah endemis DBD dengan kasus mencapai 2000 hingga 3000 setiap tahunnya (Mulyatno *et al.*, 2012), sedangkan lokasi penelitian ini merupakan daerah sporadic yang ditunjukkan nilai insiden rate di bawah 20 per 100.000 penduduk.

Selain pengujian terhadap nyamuk *Ae. aegypti* betina, penelitian ini juga melakukan pengujian untuk mengidentifikasi virus Dengue pada nyamuk jantan dewasa. Walaupun nyamuk jantan tidak mengisap darah manusia yang terinfeksi, nyamuk jantan tetap dapat terinfeksi virus dengue dari penularan melalui induk betina yang terinfeksi virus Dengue (Thenmozi *et al.*, 2007; Sorisi, 2013)

Beberapa penelitian telah membuktikan adanya infeksi virus pada nyamuk jantan yang berasal dari transmisi transovarial. Salah satunya penelitian yang dilakukan di India, di kota Chennai, Tamil Nadu oleh Arunachalam *et al* (2008) yang mendapatkan hasil 15 pool positif dari 509 pool nyamuk jantan *Ae. aegypti* yang dikumpulkan pada musim hujan dan musim kemarau dengan nilai MIR 2,7 dan 28. Penelitian yang dilakukan Mulyatno *et al* (2012) pada nyamuk jantan *Ae. aegypti* yang dikumpulkan pada musim hujan dan kemarau sepanjang tahun 2008 sampai 2011, dengan nilai MIR 8,6 dan 16,1 pada musim penghujan. Namun dari penelitian ini tidak ditemukan hasil positif dari 75 pool nyamuk jantan yang diuji. Hasil yang

berbeda ini dimungkinkan terjadi karena jumlah specimen yang diujikan lebih kecil dari penelitian-penelitian sebelumnya sehingga kemungkinan mendapatkan hasil positif berkurang.

Faktor lain yang dapat menyebabkan hasil negatif virus Dengue pada nyamuk *Ae. aegypti* jantan dan betina yang berasal dari telur adalah adanya program fogging dengan metode *thermal fogging* (pengasapan) menggunakan insektisida malathion dari Dinas Kesehatan Kota Makassar yang dilakukan setiap kali terjadi kasus DBD di suatu wilayah. Berdasarkan data *fogging* Dinas Kesehatan Kota Makassar tahun 2017, di 30 kelurahan yang dijadikan lokasi sampling, kegiatan fogging dilakukan minimal satu kali dalam jangka 1 atau 2 minggu setelah terjadi kasus DBD di wilayah tersebut. Sehingga ada kemungkinan nyamuk-nyamuk *Ae. aegypti* betina yang telah terinfeksi virus dengue telah mati akibat *fogging*.

*Fogging* dilakukan bertujuan untuk membasmi nyamuk pembawa penyakit DBD, salah satunya nyamuk *Ae. aegypti*. Fogging ini dilakukan di area sekitar rumah pasien DBD dengan jarak 100-200 meter (Ibrahim et al.,2016). Walaupun penelitian terbaru menunjukkan bahwa *fogging malathion* hanya memiliki dampak yang kecil dalam mengurangi populasi nyamuk dan transmisi virus Dengue karena hanya dapat membunuh nyamuk dewasa (Yee et al.,2017), sejumlah penelitian lainnya tetap menunjukkan keefektifan *fogging malathion* dalam meningkatkan persentase Angka Bebas Jentik (ABJ) dan mengurangi persentase indeks densitas larva setelah dilakukan fogging dengan cara menghambat aktivitas enzim kolinesterase dalam system saraf nyamuk yang menyebabkan kegelisahan, otot kejang, hingga kelumpuhan yang akhirnya menimbulkan kematian pada nyamuk (Sembiring, 2009; Salim et al.,2011; Ibrahim et al.,2016). Kota Makassar,

berdasarkan data dari Dinas Kesehatan Kota Makassar, memiliki tren peningkatan angka bebas jentik (ABJ) sepanjang 2015 dan 2016 yaitu rata-rata ABJ 87,24% dan 87,78% (Dinas Kesehatan Kota Makassar). Walaupun nilai ABJ rata-rata belum memenuhi persyaratan target ABJ yaitu 95%, beberapa wilayah di kota Makassar mampu mencapai target ABJ bahkan melebihi target 95%.

Efek singkat *thermal fogging* (pengasapan) malathion yang hanya mampu membunuh nyamuk dewasa dan tidak dapat membunuh larva, menyebabkan masih dapat ditemukannya vektor-vektor pembawa virus Dengue di 30 kelurahan lokasi penelitian. Hal ini disebabkan jarak waktu pelaksanaan *fogging* terakhir dengan waktu pengambilan sampel berkisar 1 – 9 bulan. Sehingga larva yang tidak mati pada saat dilakukan *fogging malathion* masih dapat berkembang menjadi nyamuk dewasa. Namun, tidak semua larva yang berkembang menjadi nyamuk dewasa membawa virus. Telur-telur nyamuk yang didapatkan pada saat penelitian kemungkinan merupakan generasi kedua atau ketiga dari nyamuk pembawa virus. Sehingga virus dengue di dalam tubuh nyamuk yang dijadikan sampel, konsentrasinya telah berkurang bahkan tidak ada.

Metode yang digunakan dalam identifikasi DENV juga dapat menjadi penyebab tidak ditemukannya hasil positif pada nyamuk *Aedes* jantan dan betina. Pada penelitian transmisi transovarial yang dilakukan oleh Wanti *et al* (2016) yang menggunakan dua metode deteksi DENV yaitu metode IHC dan RT-PCR pada sampel *Ae. aegypti* betina dari wilayah yang sama, mendapatkan yang berbeda. Beberapa sampel menunjukkan hasil positif DENV dari hasil pengujian dengan metode IHC namun menunjukkan hasil yang negatif pada pengujian dengan menggunakan metode PCR.

Studi yang dilakukan Wijayanti *et al* (2017) di 3 kelurahan di Banyumas dengan menggunakan sampel nyamuk *Ae. aegypti* yang sama, juga menunjukkan adanya perbedaan hasil yang didapatkan dari pengujian identifikasi DENV antara metode IHC dan RT-PCR. Hasil negatif DENV didapatkan dari sampel yang telah terdeteksi positif virus dengue dengan metode IHC. Kedua hasil penelitian tersebut menunjukkan kesensitifitas metode IHC di di bandingkan metode RT-PCR dalam mendeteksi virus Dengue, namun RT-PCR lebih spesifik dalam mendeteksi virus Dengue (Widiastuti *et al.*,2011). Beberapa penelitian melaporkan kesensitifitas hasil deteksi DENV dengan menggunakan metode *imunohistochemistry* maupun *imunocytochemistry* sebesar 87,09 % dan 88% (Widiastuti, 2011; Jack *et al.*, 2013).

Deteksi DENV menggunakan metode RT-PCR juga dapat menyebabkan hasil negatif palsu pada sampel yang diujikan. Hasil negative palsu terjadi karena rendahnya sensitifitas RT-PCR dalam mendeteksi rendahnya jumlah partikel atau titer virus dalam sampel (Yasmon, 2016). Kemungkinan adanya mutasi DENV juga menjadi faktor hasil negative palsu pengujian, mengingat tingginya frekuensi mutasi DENV sebagai virus RNA 100 kali dibandingkan virus DNA. Beberapa penelitian menunjukkan mutasi yang terjadi pada DENV, baik mutasi pada protein struktural maupun pada protein non struktural (Roehrig *et al.*,2013; Puspitasari & Tambunan, 2017). Adanya bukti terbaru mengenai penemuan serotipe ke 5 dari DENV yang memperlihatkan kemiripan dengan serotipe sebelumnya, menguatkan bukti tentang adanya mutasi pada DENV (Hardani *et al.*,2013). Mutasi virus dapat menyebabkan primer yang ada tidak lagi sensitive dalam mendeteksi virus.

Tidak ditemukannya hasil positif DENV pada penelitian menunjukkan keberhasilan program Dinas Kesehatan Kota Makassar dalam pengendalian vektor

yang mengandung DENV di kota Makassar. Namun dengan hasil ini bukan berarti pemerintah bisa mengurangi kewaspadaan terhadap penularan DENV, mengingat masih banyak ditemukannya vektor pembawa DENV. *Ae. aegypti* sebagai vektor pembawa virus dengue juga merupakan vektor pembawa virus zika yang memiliki gejala yang hampir sama dengan gejala infeksi DENV.

Berdasarkan informasi dari Kementerian Kesehatan RI pada tahun 2016, dengue dan zika merupakan penyakit emerging atau penyakit yang banyak ditemukan sehingga masih menjadi ancaman yang harus tetap diwaspadai. Oleh karena itu pengawasan dan pengendalian vektor harus tetap dilakukan.

Pada penelitian kali ini tidak dilakukan penghitungan jumlah telur disebabkan karena terbatasnya waktu dan tenaga peneliti. Sehingga peneliti tidak dapat menghitung persentase nyamuk yang berkembang menjadi nyamuk dewasa. Keterbatasan waktu penelitian juga menjadi kendala peneliti untuk mengumpulkan nyamuk-nyamuk liar di lokasi sampling sehingga jumlah nyamuk liar yang dikumpulkan di lokasi penelitian tidak cukup untuk dilakukan deteksi virus dengue.



## BAB VII

### PENUTUP

#### VI.1 Kesimpulan

- Nilai Indeks Ovitrap (IO) rata-rata di luar rumah lebih tinggi yaitu sebesar 44,22% dibandingkan IO di dalam rumah sebesar 37,4%. Namun hasil analisa statistik menunjukkan perbedaan rata-rata IO di dalam dan di luar rumah tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan kecenderungan breeding nyamuk *Ae. aegypti* sama di luar maupun di dalam rumah.
- Transmisi transovarial di Kota Makassar pada periode November 2017-Januari 2018 dan sirkulasi empat serotipe DENV, tidak berkorelasi dengan angka kejadian DBD. Hal ditunjukkan dengan nilai *minimum infection rate* (MIR) sebesar 0. Hal ini menandakan bahwa peningkatan kasus DBD di Kota Makassar pada tahun 2017 tidak dipengaruhi oleh transmisi transovarial dan sirkulasi serotipe DENV.

#### VI. 2 Saran

Walaupun tidak ditemukan hasil positif pada vektor pembawa DENV, kewaspadaan terhadap infeksi DENV harus tetap dilakukan melalui surveilans dan pengendalian terhadap vektor. Kewaspadaan ini harus tetap dilakukan mengingat virus dengue merupakan virus RNA yang memiliki frekuensi mutasi yang tinggi, sehingga mampu tetap bertahan di alam.

Untuk penelitian selanjutnya sebaiknya dilakukan pada daerah yang memiliki nilai insiden rate di atas 20 per 100.000 penduduk (daerah endemik). Penelitian juga sebaiknya dilakukan pada bulan-bulan di mana temperatur lingkungan lebih tinggi

dibandingkan temperatur lingkungan pada periode penelitian ini. Untuk mendeteksi virus dengue juga perlu dilakukan dengan metode yang berbeda atau membandingkan beberapa metode untuk hasil yang lebih akurat

